



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΝΕΥΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ
ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΤΗΣ ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΑΣ ΘΕΜΕΛΙΑΣ
ΟΥΣΙΑΣ ΤΟΥ ΜΕΣΟΣΠΟΝΔΥΛΙΟΥ ΔΙΣΚΟΥ ΤΗΣ ΟΣΦΥΪΚΗΣ
ΜΟΙΡΑΣ ΤΗΣ ΣΠΟΝΔΥΛΙΚΗΣ ΣΤΗΛΗΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΠΟΥ
ΧΕΙΡΟΥΡΓΗΘΗΚΑΝ ΓΙΑ ΚΗΛΗ ΜΕΣΟΣΠΟΝΔΥΛΙΟΥ ΔΙΣΚΟΥ**

**ΖΥΓΟΥΡΗΣ Α. ΑΝΔΡΕΑΣ
ΝΕΥΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2010

«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμών του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)»

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Με το πέρας της παρούσας διδακτορικής διατριβής οφείλω να καταθέσω ένα μεγάλο ευχαριστώ σε όλους τους δασκάλους που με βοήθησαν στις διάφορες βαθμίδες της εκπαιδευτικής διαδικασίας και στην οικογένειά μου που με στηρίζει πραγματικά προκειμένου να κάνω τα όνειρά μου πραγματικότητα. Ιδιαίτερη αναφορά θα κάνω στην κυρία Μπατιστάτου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας, για την υπομονή της, τον χρόνο που διέθεσε και την ανθρώπινη συμπεριφορά της, στον κύριο Κυρίτση, Καθηγητή Νευρολογίας, για την αμέριστη συμπαράστασή του προκειμένου να ολοκληρωθεί η παρούσα διδακτορική διατριβή, στον κύριο Πολυζώδη, Καθηγητή Νευροχειρουργικής, ως δάσκαλό μου από τα φοιτητικά μου χρόνια και σημείο αναφοράς στη σταδιοδρομία μου και στον κύριο Βούλγαρη, Αναπληρωτή Καθηγητή Νευροχειρουργικής, γιατί προσπαθεί καθημερινά με το ήθος, τις γνώσεις και την συμπεριφορά του να με κάνει καλύτερο Νευροχειρουργό και άνθρωπο.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η κλινική οντότητα της οσφυϊκής δισκοκήλης περιλαμβάνει καταστάσεις οι οποίες είναι γνωστές και ιδιαίτερα συχνές στην καθημερινή κλινική πρακτική και αφορούν σε ένα μεγάλο τμήμα του παραγωγικού πληθυσμού: οσφυαλγία, δισκογενές άλγος, ισχιαλγία, οσφυοϊσχιαλγία, ριζιτικά άλγη, υπαισθησίες και τάση των ριζών. Η παθογένεια και το σύνολο των παραγόντων που οδηγούν στην εμφάνιση μιας κήλης σε οσφυϊκό μεσοσπονδύλιο δίσκο αποτελούν μια εξαιρετικά πολύπλοκη διαδικασία και η ερευνητική προσπάθεια έγκειται στην ανάλυση και κατανόηση των ενδιάμεσων μηχανισμών. Το πρόβλημα του εκφυλισμού των μεσοσπονδύλιων δίσκων έχει προσεγγισθεί από πολλές απόψεις βάσει της βιβλιογραφίας, ξεκινώντας από τη Νευροχειρουργική και καταλήγοντας στη Μοριακή Βιολογία. Δεν έχει διευκρινισθεί σαφώς σε ποιους μεσοσπονδύλιους δίσκους ο εκφυλισμός είναι υπεύθυνος για την εμφάνιση δισκοκήλης ή αν και πώς πρέπει να διακριθεί από τις φυσιολογικές διαδικασίες της γήρανσης. Η κατεύθυνση σε ερευνητικό επίπεδο πρέπει να αφορά σε όλα εκείνα τα εκφυλιστικά χαρακτηριστικά γνωρίσματα, που έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα να οδηγήσουν σε κλινικά σύνδρομα και να επηρεάσουν τις θεραπευτικές παρεμβάσεις και την πρόγνωση των ασθενών. Άλλωστε, οι κλινικές εκδηλώσεις δεν συνδέονται επακριβώς με την εν μέρει αποδεδειγμένη αλληλουχία των ιστοπαθολογικών γεγονότων εντός του μεσοσπονδύλιου δίσκου, των υπεύθυνων για την δημιουργία μιας οσφυϊκής δισκοκήλης. Η λειτουργικότητα του μεσοσπονδύλιου δίσκου βασίζεται στη σύσταση και στη δομική ακεραιότητα της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας, βασικά συστατικά της οποίας αποτελούν το κολλαγόνο και οι πρωτεογλυκάνες. Η μελέτη του βαθμού εκφύλισης των συστατικών αυτών και η καταγραφή της έκφρασης συγκεκριμένων ενζύμων, των μεταλλοπρωτεΐνών, αποτελούν μία εκ των βασικών κατευθύνσεων στην αναζήτηση των παραγόντων που πυροδοτούν σε ιστολογικό επίπεδο

την εκφύλιση του μεσοσπονδύλιου δίσκου, περαιτέρω την εμφάνιση μιας δισκοκήλης και καταλήγουν σε κλινικό επίπεδο σε κρίσεις οσφυαλγίας έως βαριά νευρολογικά ελλείμματα. Η παρούσα διδακτορική διατριβή εστιάζει σε ασθενείς που χειρουργήθηκαν με τη διάγνωση της οσφυϊκής δισκοκήλης και στη συγκριτική μελέτη των ιστολογικών αλλοιώσεων και των ανοσοϊστοχημικών ευρημάτων των δειγμάτων, σε μια όσο το δυνατόν πλησιέστερα in vivo μελέτη των αλλοιώσεων. Σκοπός είναι η διερεύνηση της ύπαρξης διαφορών στις δομικές αλλαγές στη θεμέλια ουσία του μεσοσπονδύλιου δίσκου σε ασθενείς διαφόρων ηλικιών, της φύσης αυτών και κυρίως του συσχετισμού όλων αυτών των παραμέτρων μέσω ημιποσοτικής μεθόδου με τα ευρήματα από τη Μαγνητική Τομογραφία και τη διεγχειρητική εικόνα όσον αφορά στη μορφή της οσφυϊκής δισκοκήλης. Τα συμπεράσματα σχετικά με το βαθμό συσχέτισης μεταξύ αυτών των παραγόντων θα προσφέρουν πιο σαφείς και τεκμηριωμένες απόψεις για μηχανισμούς, οι οποίοι θεωρούνται μεν υπεύθυνοι δημιουργίας της οσφυϊκής δισκοκήλης, εξακολουθούν δε να αναλύονται περαιτέρω.

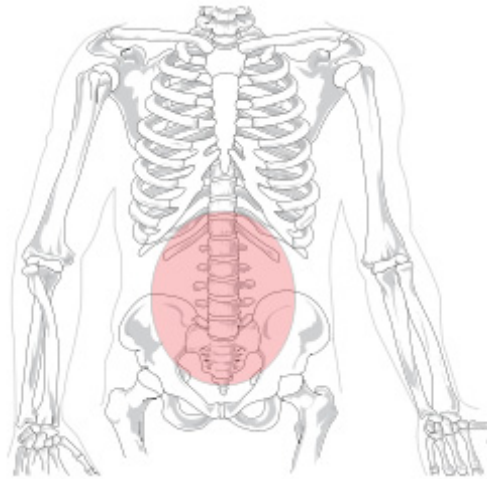
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	13-40
ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ.....	41-44
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	45-70
ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	71-80
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	81-84
ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΑ ΕΛΛΗΝΙΚΑ.....	85-88
ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΑ ΑΓΓΛΙΚΑ (ABSTRACT).....	89-94
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	95-109

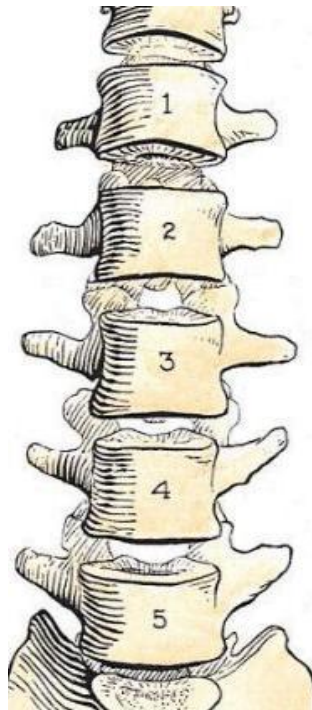
ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η σπονδυλική στήλη (ΣΣ) αποτελείται από 33 ή 34 σπονδύλους και εμφανίζει 5 μοίρες, αυχενική, θωρακική, οσφυϊκή, ιερή και κοκκυγική στις οποίες διακρίνονται 7 αυχενικοί, 12 θωρακικοί, 5 οσφυϊκοί, 5 ιεροί και 4 ή 5 κοκκυγικοί σπόνδυλοι (1,2,3). Αν απομονώσουμε μια σπονδυλική μονάδα, θα διαπιστώσουμε ότι η δυνατότητα κίνησης είναι ιδιαίτερα περιορισμένη. Αντίθετα, η ΣΣ ως σύνολο εμφανίζει την ικανότητα να εκτελεί ένα ευρύ φάσμα κινήσεων (4). Η δυνατότητα αυτή οφείλεται καταρχήν στα τέσσερα κυρτώματα. Σε θωρακική και ιερή το κυρτό στρέφεται προς τα πίσω και σε αυχενική και οσφυϊκή προς τα εμπρός. Η ολοκλήρωση της ανάπτυξης του οσφυϊκού κυρτώματος αποτελεί την βασική αρχή έναρξης της όρθιας στάσης στα παιδιά (1,4). Κύριο ρόλο όμως διαδραματίζουν η δομή, η κατασκευή και οι εμβιομηχανικές ιδιότητες που διαθέτουν οι 23 μεσοσπονδύλιοι δίσκοι (ΜΔ). Αποτελούν το ένα τρίτημόριο του ύψους της σπονδυλικής στήλης ως ενδιάμεσες δομές («μαξιλάρια») ινώδους χόνδρου μεταξύ των σπονδυλικών σωμάτων για απορρόφηση κραδασμών, κατανομή ομοιόμορφα των φορτίων, παροχή ελαστικότητας και εξυπηρέτηση κινήσεων κάμψης, έκτασης, στροφής και συνδυασμών τους (5,6).

Η οσφυϊκή μοίρα της ΣΣ (ΟΜΣΣ) χαρακτηρίζεται από ορισμένες διαφορές υψηλής λειτουργικής σημασίας. Έχει το μεγαλύτερο μέγεθος σπονδυλικών σωμάτων και ΜΔ, γιατί υποβαστάζει το βάρος της κεφαλής, του κορμού και των άνω άκρων, οπότε η μείζονα φόρτιση καταγράφεται κυρίως στην συγκεκριμένη περιοχή (4), ενώ είναι λορδωτική και οι μεσοσπονδύλιες διαρθρώσεις της φέρονται οβελιαία. Το σύνολο των γνωρισμάτων αυτών της ΟΜΣΣ επιτρέπουν κάμψη, έκταση, πλάγια κάμψη, με σημαντικό περιορισμό στην αξονική στροφή. (εικ.1,2).



Εικ.1. Οσφυϊκή Μοίρα Σπονδυλικής Στήλης (ΟΜΣΣ)



Εικ.2. Οσφυϊκοί Σπόνδυλοι

ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Η οσφυαλγία αποτελεί την δεύτερη πιο συχνή αιτία αναζήτησης ιατρικής βοήθειας και την πρώτη αιτία αποχής από την εργασία σε ηλικίες κάτω των 45 ετών (7,8,9,10,11,12,13). Στο 80% των περιπτώσεων υποχωρεί εντός δύο εβδομάδων και πλήρη ύφεση παρατηρείται στο 90% μέσα σε μια περίοδο λίγων μηνών, ενώ μόνο το 1% καταλήγει σε σύνδρομο χρόνιου πόνου. Στις Η.Π.Α. μισό εκατομμύριο εργαζόμενοι κάθε χρόνο καταγράφονται ως πάσχοντες από οσφυαλγία. Ως την ηλικία των 60 ετών το 80% του πληθυσμού αναφέρει οσφυαλγία σε κάποια στιγμή της ζωής του. Το υπόλοιπο 20% πιθανολογείται ότι έχει ξεχάσει παρόμοια επεισόδια και δεν τα ανέφερε, γιατί τα θεώρησε μη άξια αναφοράς ως μέρος της καθημερινότητάς του. Η ηλικία των 50 ετών αποτελεί ένα όριο σε σχέση με την επίπτωση της οσφυαλγίας στα δύο φύλα: πριν τα 50 συνηθέστερα γυναίκες και μετά από αυτή συχνότερα άνδρες. Η συχνότητα εμφάνισης οσφυαλγίας είναι σαφώς μικρότερη στην παιδική και εφηβική ηλικία αν και αυτή παρουσιάζει μεγάλες διαφορές μεταξύ των δημοσιευμένων εργασιών. Οι διαφορές αυτές είναι ανάλογες με την ηλικιακή ομάδα η οποία μελετήθηκε και με τη μέθοδο καταγραφής που χρησιμοποιήθηκε αλλά και με βάση αυτό τον ίδιο τον ορισμό της οσφυαλγίας. Τέλος, το 90% των πασχόντων με ριζιτική συνδρομή, δηλαδή ισχιαλγία, θα παρουσιάσει ύφεση των συμπτωμάτων εντός έξι μηνών, ενώ λιγότεροι από το 10% θα αντιμετωπιστούν χειρουργικά.

ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Η κήλη του μεσοσπονδύλιου δίσκου ως ιδιαίτερη κλινική οντότητα έγινε γνωστή μετά την κλασική εργασία των Mixter και Barr το 1934, η πρώτη σελίδα της οποίας απεικονίζεται στο τέλος του υποκεφαλαίου (7). Οι συγγραφείς αυτοί κατόρθωσαν να εξηγήσουν ότι το σύνδρομο της οσφυαλγίας-ισχιαλγίας ή οσφυοϊσχιαλγίας οφειλόταν στην πίεση μιάς ή περισσότερων ριζών από την πρόπτωση του πηκτοειδούς πυρήνα του μεσοσπονδύλιου δίσκου μέσα στον σπονδυλικό σωλήνα. Η εκδήλωση της πάθησης αυτής ήταν γνωστή από τα αρχαία χρόνια, αφού ο Ιπποκράτης αναφέρει ως πάθηση την ισχιαλγία. Ο μεσοσπονδύλιος δίσκος ως ιδιαίτερη ανατομική οντότητα παρουσιάστηκε για πρώτη φορά από τον Vessalius (1555), ο οποίος περιέγραψε και ανέλυσε την οσφυαλγία και την ισχιαλγία. Έναν αιώνα αργότερα ο Laséque ανακάλυψε ότι η ανύψωση του ευθείασμένου σκέλους προκαλούσε έντονη οσφυοϊσχιαλγία σε ασθενείς που έπασχαν από ισχιαλγία. Έκτοτε, το χαρακτηριστικό αυτό σημείο φέρει μέχρι σήμερα το όνομα του. Μάλιστα, η συχνότητα της νόσου ήταν -και παραμένει- τέτοια, που και ο William Shakespeare στα έργα του περιγράφει χαρακτηριστικά τους ανθρώπους που έπασχαν από οσφυοϊσχιαλγία (“How now, which of your hips has the most profound sciatica?”, Measure for Measure, 1603). Ο Virchow (1857) και ο von Luschka (1858) περιέγραψαν την εμβρυολογία και την ανατομική του ΜΔ, χωρίς όμως να συσχετίσουν τις νευρολογικές εκδηλώσεις με το ΜΔ. Οι Middleton και Teacher (1911) κατέγραψαν περίπτωση νέου άνδρα που, μετά από ανύψωση βάρους, παρουσίασε αμφοτερόπλευρη οσφυοϊσχιαλγία, παραπάρεση και ορθοκυστικές διαταραχές και ο οποίος κατέληξε μετά από 16 ημέρες. Η νεκροψία που έγινε αποκάλυψε πρόπτωση του πηκτοειδούς πυρήνα στο διάστημα Θ12-Ο1. Ο Dejerine (1914) περιέγραψε λεπτομερώς διάφορες μορφές ισχιαλγίας αποδίδοντάς τες σε λοιμώδη αίτια. Οι μελέτες όμως αυτές δεν έτυχαν της απαιτούμενης προσοχής ή δεν αποτέλεσαν

ουσιαστική αφορμή για περαιτέρω ανάλυση, παρ' όλο που η χειρουργική της σπονδυλικής στήλης είχε προχωρήσει σε σημείο που να ερευνάται ο σπονδυλικός σωλήνας και να αφαιρούνται οι δισκοκήλες. Το γεγονός αυτό αναγνωρίζεται καθαρά σε εργασίες των: Oppenheim και Krause (1909), Adson (1920), Alajouanine (1924), Eisberg (1920) και Sicard (1916), που χαρακτήρισαν τις προπτώσεις των ΜΔ ογκόμορφες βλάβες και επέμεναν στη λοιμώδη αιτιολογία των ισχιαλγιών. Οι Petren (1908), Frieberg, Vinkie (1934) και Haggart (1938) όρισαν την ισχιαλγία ως νευρίτιδα εκ πίεσεως και υποστήριξαν ότι το ισχιακό νεύρο μπορούσε να δέχεται πιέσεις σε διάφορα σημεία της πορείας του. Ο Foerster (1933) ανέδειξε ως αιτία των προσβολών ισχιαλγίας τις οστεοαρθρικές αλλοιώσεις στα μεσοσπονδύλια τμήματα, ενώ ο Sicard (1918) μια μορφή μεταφλεγμονώδους ριζίτιδας. Schmorl (1927) και Andrae (1929) ανακάλυψαν σε νεκροτομικά παρασκευάσματα προπτώσεις χόνδρινων τμημάτων που είχαν την υφή του πηκτοειδούς πυρήνα και περιέγραψαν με λεπτομέρειες την παθολογική ανατομική της πρόπτωσης του ΜΔ. Τέλος, ο Dandy (1929) προκάλεσε σε πειραματόζωα πρόπτωση του πηκτοειδούς πυρήνα καταγράφοντας τις κλινικές εκδηλώσεις. Όλες οι παραπάνω μελέτες μπορούν να θεωρηθούν σαν πρόδρομες για την ανακοίνωση των Mixter and Barr (1934) που υπήρξε σταθμός για την ορθή κατεύθυνση που θα έπρεπε να ακολουθηθεί για την ερμηνεία της ισχιαλγίας. Με την ιστορική αυτή εργασία αποδείχθηκε ότι η ισχιαλγία δεν είχε λοιμώδη χαρακτήρα, αλλά ήταν ένα καθαρά πιεστικό φαινόμενο επί της νευρικής ρίζας. Η πίεση αναπτυσσόταν μέσα στο σπονδυλικό σωλήνα και οφειλόταν σε κήλη του ΜΔ. Για το λόγο αυτό, η χειρουργική εξαίρεση του προπίπτοντος τμήματος θεωρήθηκε ως ενδεδειγμένη θεραπευτική αγωγή για την άρση της πίεσης της προσβεβλημένης ρίζας.

NEW ENGLAND SURGICAL SOCIETY

RUPTURE OF THE INTERVERTEBRAL DISC WITH INVOLVEMENT OF THE SPINAL CANAL*

BY WILLIAM JASON MIXTER, M.D.,† AND JOSEPH S. BARR, M.D.†

DURING the last few years there has been a good deal written and a large amount of clinical work done stimulated by Schmorl's² investigation of the condition of the intervertebral disc as found at autopsy. His work will stand

In 1911 Goldthwait² reported a case of sciatica and paraplegia which he attributed to a posterior displacement of the intervertebral disc at the lumbosacral junction and suggested that such displacements might be the cause of many



FIG. 1. A normal intervertebral disc. Note cartilage plate, anterior and posterior longitudinal ligament, annulus fibrosus, and the semifluid nucleus pulposus which bears the superincumbent body weight and is retained in place under pressure by the annulus.

as the most complete, painstaking and authoritative that has ever been done in this condition. This work, however, is purely pathological and it now remains for the clinician to correlate it with the clinical findings and apply it for the relief of those patients who are disabled by the lesion.

In the routine examination of spines from autopsy material he discovered that the intervertebral disc is often involved in pathological changes, the most common one being prolapse of the nucleus pulposus into an adjacent vertebral body. He found one or more such prolapses (Knorpel-knochen) in about thirty-eight per cent of the spines examined. He also discovered that in about fifteen per cent of the spines there were small posterior prolapses beneath the posterior longitudinal ligament, but concluded that they rarely, if ever, produced clinical symptoms. He attributed their presence to weakening of the annulus fibrosus by degenerative changes, with mild trauma as a second factor, producing fissures in the annulus and escape of the semifluid nuclear material.

On the other hand, for a number of years clinicians have been reporting cases of spinal cord pressure from intervertebral disc lesions.

*Read at the Annual Meeting of the New England Surgical Society, September 30, 1933, at Boston.

†Mixer, William Jason—Visiting Surgeon, Massachusetts General Hospital. Barr, Joseph S.—Orthopedic Surgeon to Out-Patients, Massachusetts General Hospital. For records and addresses of authors see "This Week's Issue," page 234.

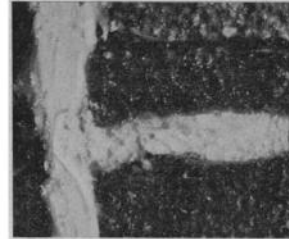
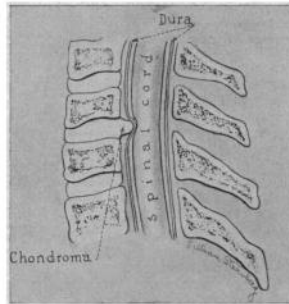


FIG. 2. Autopsy specimen, CASE 5. Note small posterior prolapse such as Schmorl describes.



(FIG. 17. Showing the usual location of a ventral vertebral disc chondroma. (Legend in *Surgery, Gynecology and Obstetrics*.)

FIG. 3. Illustration taken from article by Elsberg, showing "chondroma" arising from intervertebral disc. (Elsberg: S. G. & O., 46: 19: 1928.)

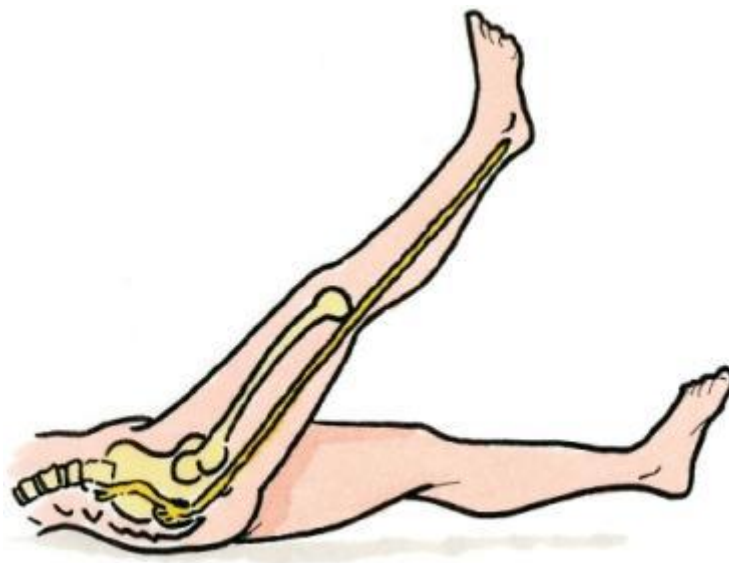
cases of lumbago, sciatica, etc. Middleton and Teacher³ report a similar case confirmed at autopsy. Elsberg⁴ in 1916 mentions chondroma of the vertebrae as causing compression of the cauda equina and states that Oppenheim has described a similar case. Mixer⁵ in 1921 mentions a similar case and numerous other re-

Mixer WJ, Barr JS
Rupture of the Intervertebral Disc with
Involvement of the Spinal Canal
N Engl J Med 211:210-215, 1934.

ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ-ΜΟΡΦΕΣ

ΟΣΦΥΪΚΗΣ ΔΙΣΚΟΚΗΛΗΣ

Οι δομικές διαταραχές που προκαλούν οσφυαλγία με/ή ισχιαλγία αφορούν κυρίως στους ΜΔ και περαιτέρω στην εμφάνιση δισκοκήλης. Η ισχιαλγία αφορά σε ριζιτικού τύπου άλγος, λόγω πίεσης νευρικής ρίζας κατά την έξοδό της από το νωτιαίο σάκκο και αποτελεί κατεξοχήν αιτία προσέλευσης στο Νευροχειρουργικό Ιατρείο (14,15). Στην τάση που εξασκείται στο ισχιακό νεύρο σε αυτές τις περιπτώσεις βασίζεται και η κυριότερη κλινική δοκιμασία της ανύψωσης του κάτω άκρου (Laségue sign, SLR: straight leg raising, **εικ.3**) (14). Όπως προαναφέρθηκε, ο Dejerine θεώρησε την νευραλγία αυτή ως πάθηση της ρίζας ή των ριζών του νεύρου και αργότερα, σειρά παρατηρήσεων από Ευρωπαίους και Αμερικανούς ερευνητές επιβεβαίωσαν την θεωρία αυτή, η οποία επαληθεύτηκε και χειρουργικά από τους Γάλλους Alajouanine και Petit (16). Υψηλότερου κινδύνου καταστάσεις που εμπλέκονται σε μια οσφυϊκή δισκοκήλη αποτελούν η πάρεση ρίζας ή ριζών και οι ορθοκυστικές διαταραχές στα πλαίσια ιππουριδικής συνδρομής, οι οποία και απαιτεί άμεση χειρουργική παρέμβαση, λόγω μεγαλύτερης πιθανότητας μόνιμων νευρολογικών ελλειμμάτων (8,9,14,15). Η εμφάνιση των οσφυϊκών δισκοκηλών σε μεγάλο τμήμα του ενήλικου παραγωγικού πληθυσμού σε συνδυασμό με τις προαναφερθείσες επιπλοκές καθιστά τελικά την κλινική αυτή οντότητα πρόκληση τόσο σε χειρουργικό όσο και σε ιστοπαθολογικό επίπεδο (13).



Εικ.3. Σημείο Lasègue

Τα κατώτερα επίπεδα της ΟΜΣΣ έχουν την υψηλότερη πιθανότητα απώλειας της φυσιολογικής γλοιοελαστικότητας των ΜΔ (14,17,18), υποβάλλονται σε περισσότερες κινήσεις και οι νευρικές ρίζες έχουν μεγαλύτερο πάχος (16). Συγχρόνως, η περιοχή μεταξύ οπίσθιας επιφάνειας ΜΔ και του πλαγίου εκκολπώματος (= τμήμα που αφορίζεται μπροστά από τον οπίσθιο επιμήκη σύνδεσμο, πίσω από την αρθρική απόφυση και τον ωχρό σύνδεσμο και έσω από την εσωτερική επιφάνεια του πετάλου του σπονδύλου), από την οποία διέρχεται η νευρική ρίζα για να φθάσει στο μεσοσπονδύλιο τρήμα, είναι στενότερη στα επίπεδα αυτά (14). Για όλους αυτούς τους λόγους, η εντόπιση των οσφυϊκών δισκοκηλών αφορά κυρίως στα επίπεδα Ο4-Ο5 και Ο5-Ι1 (εικ.4).

Ο πρόσθιος και ο οπίσθιος επιμήκης σύνδεσμος ενισχύουν περαιτέρω τα μεσοσπονδύλια διαστήματα (19). Ο πρόσθιος συνδέεται εντονότερα με τις άκρες του σπονδυλικού σώματος παρά με τον ινώδη δακτύλιο (ΙΔ). Παρέχει στήριξη σε δυνάμεις που ασκούνται κυρίως σε έκταση και είναι ισχυρότερος σύνδεσμος από τον οπίσθιο (14). Ο

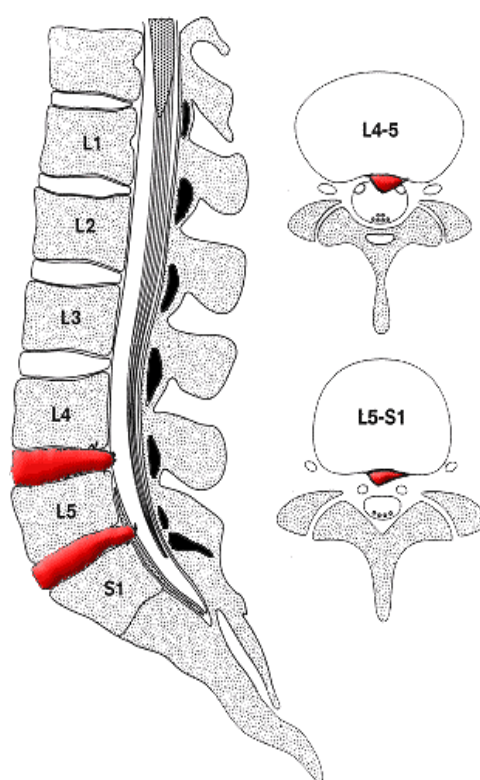
οπίσθιος παρέχει στήριξη σε δυνάμεις που ασκούνται κυρίως σε κάμψη, συνδέεται εντονότερα με τον ΙΔ και υφίσταται συχνότερα ρήξη με ελεύθερο δισκικό υλικό. Συγκεκριμένα, είναι ισχυρότερος στο μέσο και λιγότερο ανθεκτικός στο οπίσθιο-έξω τμήμα του, ερμηνεύοντας την παρουσία της συντριπτικής πλειοψηφίας των δισκοκηλών στη θέση αυτή (9,17,20).

Ο εκφυλισμός της οσφυϊκής μοίρας της σπονδυλικής στήλης είναι μια προοδευτική επιδείνωση των δομών συμπεριλαμβανομένου του ΜΔ, των αρθρικών αποφύσεων, των σπονδυλικών σωμάτων και του ωχρού συνδέσμου (6,14). Η γήρανση του ΜΔ σχετίζεται με κακή διατροφή, διαταραχή στους επανορθωτικούς μηχανισμούς και αύξηση της συγκέντρωσης των υλικών αποδόμησης. Η προσβολή σε επίπεδο δομικών αλλαγών αναγνωρίζεται από ρήξεις του ΙΔ και μείωση της περιεκτικότητας του πηκτοειδούς πυρήνα (ΠΠ) σε πρωτεογλυκάνες και νερό (21,22,23,24,25).

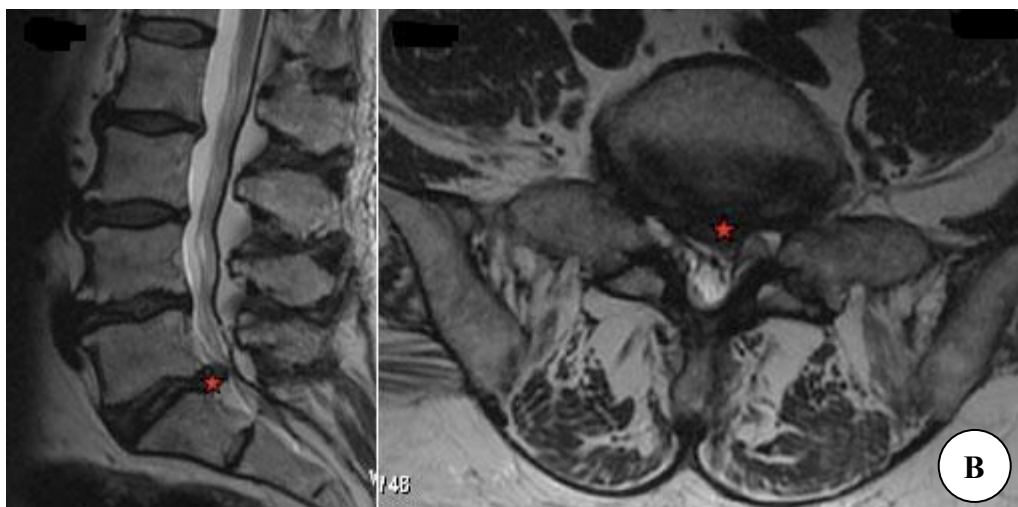
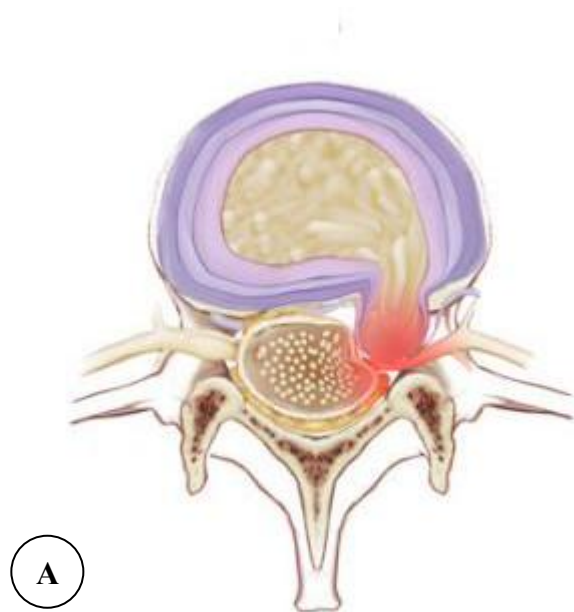
Οι αλλαγές στο ενδοδισκικό περιβάλλον και στον περιδισκικό χώρο αρχικά οδηγούν σε συμμετρική προβολή του ΜΔ και στην συνέχεια η εντοπισμένη μετακίνηση δισκικού υλικού πέρα από τα όρια του δισκικού χώρου δημιουργεί την οσφυϊκή δισκοκήλη (26). Η ρίζα του νεύρου στην ΟΜΣΣ εξέρχεται κοντά και κάτω από τον αυχένα του ομώνυμου σπονδύλου (14). Η δισκοκήλη προβάλλει στον επισκληρίδιο χώρο του σπονδυλικού σωλήνα, χώρος όπου θεωρείται ότι ενεργοποιεί φλεγμονώδη αντίδραση, που δεν έχει πλήρως διερευνηθεί και αποσαφηνισθεί ως προς την αυτοάνοση αρχή της (27), και η οποία, σε συνδυασμό με μηχανική πίεση επί της ρίζας, προάγει την συμπτωματολογία.

Η διάγνωση της παθολογίας της ΟΜΣΣ βασίζεται και σε μια σειρά απεικονιστικών ευρημάτων, όπως αυτά προκύπτουν κυρίως από την μαγνητική τομογραφία (ΜΤ). Η ΜΤ επέτρεψε την διάκριση των οσφυϊκών δισκοκηλών σε 3 βασικές μορφές: πρόπτωση, έκθλιψη και απόσπαση (εικ.5,6) (28,29,30). Η πρόπτωση αφορά σε δισκικό υλικό που έχει ευρύ αυχένα με τον υπόλοιπο ΜΔ, η έκθλιψη με στενό αυχένα και η απόσπαση σε δισκικό

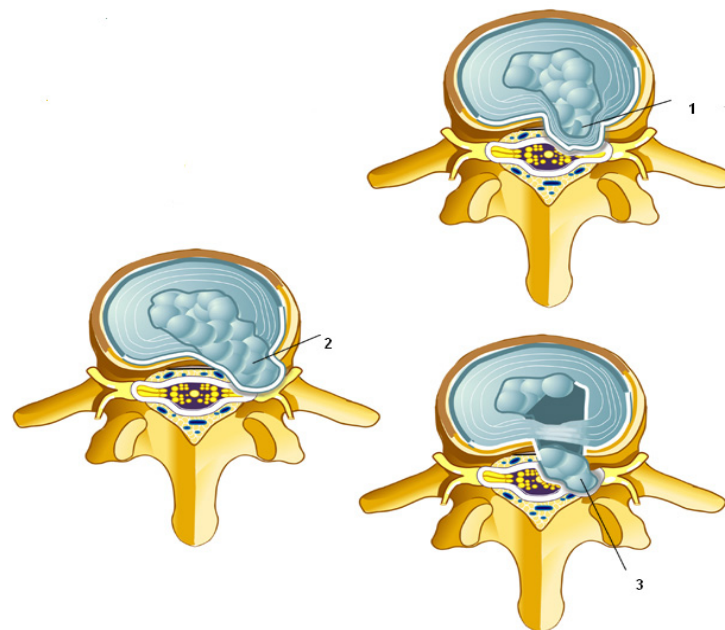
υλικό ελεύθερο παρά τον ενδοδισκικό χώρο ή μετακινηθέν κάτω από τον οπίσθιο επιμήκη σύνδεσμο (31). Ο οπίσθιος επιμήκης σύνδεσμος, όπως προαναφέρθηκε, υφίσταται συχνά και αυτός ρήξη, λόγω προοδευτικής απώλειας του πάχους του. Εντούτοις, η παρουσία δισκοκήλης σε MT δεν συνοδεύεται από συμπτώματα στο 24% του γενικού πληθυσμού και στο 36% σε ηλικίες 60-80 ετών (32).



Εικ.4. Συνήθεις εντοπίσεις δισκοκήλης ΟΜΣΣ



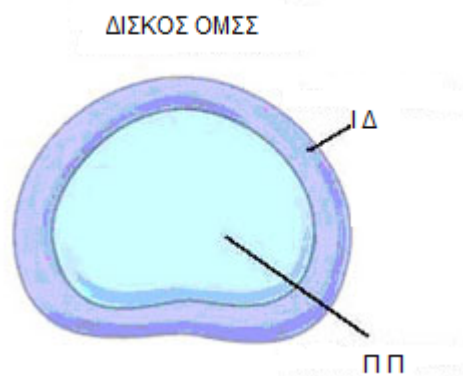
Εικ.5. Σχηματική εικόνα (A) και Μαγνητική τομογραφία (T2 ακολουθία) (B)
οσφυϊκής δισκοκήλης με πίεση αριστερής I1 ρίζας.



Εικ.6. Σχηματική απεικόνιση της προβολής του ΜΔ και των μορφών/βαθμών της οσφυϊκής δισκοκήλης, 1:πρόπτωση, 2:έκθλιψη, 3:απόσπαση, εγκάρσιο επίπεδο.

ΜΕΣΟΣΠΟΝΔΥΛΙΟΣ ΔΙΣΚΟΣ: ΣΥΣΤΑΣΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ

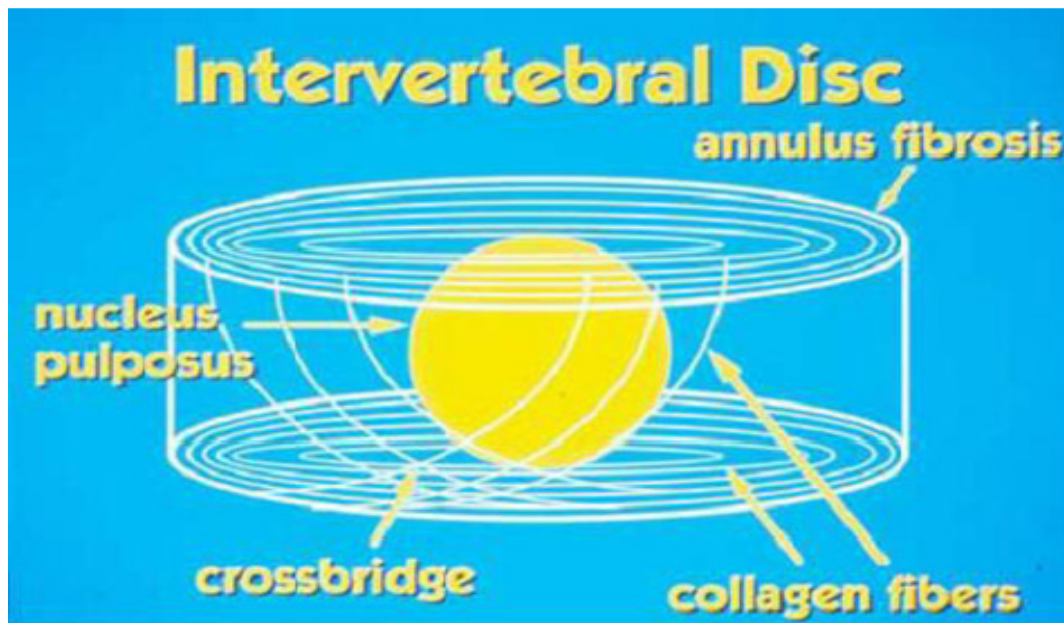
Ο ενδοδισκικός χώρος αφορίζεται από τις επιφυσιακές πλάκες σε κεφαλοουραία κατεύθυνση και από τις αγκιστροειδείς αποφύσεις σε οριζόντιο επίπεδο και περιέχει το ΜΔ. Η επιφυσιακή πλάκα αποτελεί τμήμα του ΜΔ, με πάχος 0,75 χιλιοστά και έχει υψηλή διαπερατότητα, ώστε να παρέχει μέσω διάχυσης τα διατροφικά υλικά στο μεγαλύτερο τμήμα του ανάγγειου ΜΔ (5,19). Στα παιδιά αποτελείται από υαλοειδή χόνδρο και στους ενήλικες από αποτιτανωμένο χόνδρο και οστό. Η αγκιστροειδής απόφυση αφορά στο τμήμα του σπονδυλικού σώματος που δεν έχει επιφυσιακή πλάκα, δηλαδή το πιο ακραίο σημείο του ΜΔ. Ο ΜΔ έχει πάχος 7-10 χιλιοστά και προσθιοπίσθια διάμετρο 3,5 - 4 εκατοστά. Αποτελείται από δύο τμήματα, εξωτερικά τον ινώδη δακτύλιο (ΙΔ), με έσω και έξω τμήματα, και εσωτερικά τον πηκτοειδή πυρήνα (ΠΠ). Τα έσω και έξω τμήματα του ΙΔ συνδέονται με τις επιφυσιακές πλάκες και το σπονδυλικό σώμα αντίστοιχα. Τα κύτταρα του ΜΔ είναι χονδροκύτταρα και στο έξω τμήμα του ΙΔ ινοβλάστες. Νερό, πρωτεογλυκάνες και κολλαγόνο είναι κοινά συστατικά σε ΙΔ και ΠΠ αλλά σε διαφορετική αναλογία, άμεσα σχετιζόμενη με την λειτουργία κάθε τμήματος (εικ.7). Συγκεκριμένα, ο ΙΔ περιέχει 20% νερό, 60% πρωτεογλυκάνες, 55% ίνες κολλαγόνου, τύπου II στο έσω και τύπου I στο έξω τμήμα, και 10% ελαστίνη. Αντίθετα, ο ΠΠ έχει 80% νερό, 17% κολλαγόνο, με ίδια ποσότητα σε πρωτεογλυκάνες και με ελάχιστη ελαστίνη. Η ικανοποιητική ενυδάτωση του ΜΔ επιτρέπει ταχύτερη διάχυση διατροφικών ουσιών, αφού, όπως εύστοχα έχει ειπωθεί, «είναι πιο εύκολο να κολυμπήσεις στο νερό παρά στην άμμο της ερήμου».



Εικ.7. Τμήματα μεσοσπονδύλιου δίσκου

Ο ΙΑ εμφανίζει συγκεντρικά τοποθετημένες ίνες οι οποίες δημιουργούν πετάλια ορισμένου προσανατολισμού, απαραίτητου για την αύξηση της αντοχής σε μηχανικές φορτίσεις (19,33,34). Τα οστεόφυτα δημιουργούνται πλησίον των πεταλίων αυτών.

Ο ΠΠ αποτελεί ζελατινώδη δομή, υπόλειμμα της νωτιαίας χορδής, με θεμέλια ουσία ή στρώμα πρωτεογλυκανών, βλεννοπολυσακχαριτών, μη κολλαγόνων πρωτεϊνών, κολλοειδούς ιστικού υγρού και ινών κολλαγόνου (εικ.8) (35). Από άποψη αρχιτεκτονικής, οι γέφυρες υαλουρονικού οξέος μεταξύ των πρωτεογλυκανών δημιουργούν μόρια αγκρεκάνης. Οι σχηματισμοί αυτοί παρέχουν υψηλότερη στηρικτική δύναμη στον υγρή ΜΔ σε σχέση με το σπονδυλικό σώμα και οδηγούν σε μια σπογγιώδη διαμόρφωση, που τους επιτρέπει να συγκρατούν νερό βάρους 500 φορές μεγαλύτερου από τις ίδιες. Τελικά, η υψηλή υδροστατική πίεση του ΠΠ δεν επιτρέπει στα πετάλια του ΙΑ να στρέφουν προς το εσωτερικό διατηρώντας το σχήμα του ΜΔ σε φορτίσεις κάθε είδους και παρέχοντας ιδιότητες ερπυσμού (creep behavior) στον υγρή ΜΔ (1,4,15,36,37,38,39,40).



Εικ.8. Πετάλια ινώδους δακτυλίου σε σχέση με τον πηκτοειδή πυρήνα (Intervertebral Disc: ΜΔ, nucleus pulposus: ΠΠ, crossbridge: γέφυρα μεταξύ των πεταλίων, collagen fibers: ίνες κολλαγόνου).

Η 24ωρη μεταβολή του σχήματος και του ύψους του ΜΔ αποτελεί το πιο χαρακτηριστικό παράδειγμα του λειτουργικού ρόλου της προαναφερθείσας αρχιτεκτονικής του ΜΔ. Η αυξημένη φόρτιση σε ορθοστασία προκαλεί μια ιστική αντίδραση εντός του ΜΔ, νερό εξέρχεται στον διάμεσο χώρο, μειώνεται το ύψος του ΜΔ και ο ίδιος παραμορφώνεται. Στην διάρκεια του ύπνου η αποφόρτιση οδηγεί το νερό ενδοκυττάρια και ο όγκος αποκαθίσταται. Το ανθρώπινο σώμα χάνει με τον τρόπο αυτό περίπου ένα εκατοστό του ύψους του την ημέρα, το οποίο αποκαθίσταται τη νύχτα.

ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΟΣΦΥΪΚΗΣ ΔΙΣΚΟΚΗΛΗΣ

Η εμφάνιση μιας οσφυϊκής δισκοκήλης αποτελεί έναν συνδυασμό μιας σειράς εμβιομηχανικών αλλαγών και μιας φλεγμονώδους αντίδρασης με δυσχέρεια διάκρισης αιτίου και συνέπειας μεταξύ των (27,41,42,43,44,45,46,47,48,49). Ως μια τέτοια πολύπλοκη διαδικασία έχει, σε μία γενική θεώρηση, δύο σκέλη: το πρώτο αφορά σε φυσικοχημικές τροποποιήσεις εντός της θεμέλιας ουσίας και το δεύτερο στη στηρικτική δύναμη της σπονδυλικής στήλης που προκαλεί μια ποικιλία καταπονήσεων. Πρόκειται για δύο συμβάντα που δημιουργούν αλληλεπιδράσεις πιθανώς σε διάφορα επίπεδα. Ο προοδευτικός αποπολυμερισμός των βλεννοπολυσακχαριτών και η συνοδός διαταραχή της ενδοδισκικής ισορροπίας συνδυάζονται με μία φλεγμονώδη απάντηση και μία ενζυμική επίδραση και συνεπικουρούμενα - με άγνωστο μηχανισμό- από βιοφυσικούς παραγοντές οδηγούν σε πρόωρη δισκική εκφύλιση. Το δεύτερο στάδιο αφορά σε αυξημένη ενδοδισκική πίεση, αντιδραστική επανασύνθεση βλεννοπολυσακχαριτών και απώλεια λειτουργίας του ΠΠ με συνοδό αύξηση της ινιδώσεως του κολλαγόνου που περιέχει. Η νέα ισορροπία καταπονεί ΠΠ και ΙΔ και συγχρόνως εξελίσσεται, οπότε δονήσεις, τραύμα και κάθε απότομη εφαρμογή δυνάμεων μπορούν να οδηγήσουν σε πρόπτωση του ΠΠ του ΜΔ και στην εμφάνιση δισκοκήλης (15,43,48,49).

Η εμφάνιση δισκοκήλης είναι λοιπόν μία πολυπαραγοντική διαδικασία και επηρεάζεται από μηχανικές φορτίσεις, περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως το κάπνισμα, γενετικούς παράγοντες, αυτοάνοσους μηχανισμούς και αλλαγές στην κυτταρική βιολογία του ΜΔ (20,32,50,51,52,53).

Ξεκινώντας από τον παράγοντα της κληρονομικότητας έχει διαπιστωθεί ότι το 50-70% των ιστοπαθολογικών αλλοιώσεων σε ΜΔ μονοζυγωτικών διδύμων είναι κοινές με την

παροδο της ηλικίας χωρίς σημαντικές διαφορές σε περιβαλλοντικούς παράγοντες (53,54,55,56). Γονίδια που συνδέονται με τον εκφυλισμό του ΜΔ περιλαμβάνουν εκείνα για τον τύπο IX του κολλαγόνου, την αγκρεκάνη και την μεταλλοπρωτεΐνάση-3 (MMP-3) (57,58,59). Οι συστηματικές επιδράσεις των γονιδίων αυτών ερμηνεύουν σε ένα βαθμό τον συνδυασμό της δισκικής εκφύλισης με την οστεοαρθρίτιδα σε πολλούς ασθενείς (60). Ο Sahlman και συν. κατέγραψαν επίσης ότι ποντίκια που ήταν ετεροζυγώτες για το γονίδιο Col2a1, σχετικό με τον τύπου II κολλαγόνο, είχαν μια μειωμένη συγκέντρωση των πρωτεογλυκανών και διαταραχές στην μορφολογία των επιφυσιακών πλακών, των σπονδυλικών σωμάτων και του ΙΔ (61).

Σειρά πολλών εμβιομηχανικών μελετών έχει καταγράψει την επίδραση της εφαρμοσμένης μηχανικής πίεσης στον εκφυλισμό του ΜΔ. Θεωρείται ότι ξεκινά από την ηλικία των 18 ετών ακόμη, μεταβάλλοντας τις ενδοδισκικές συνθήκες κατά τέτοιο τρόπο, ώστε να αυξάνεται και η πιθανότητα εμφάνισης δισκοκήλης (62). Μια μελέτη, στην οποία μελετήθηκε η συμπεριφορά νεκροτομικού υλικού ΟΜΣΣ σε κάμψη-έκταση, αξονική περιστροφή και πλάγια κάμψη, παρατηρήθηκε αυξημένη απώλεια ελαστικότητας των εκφυλισμένων δίσκων και μείωση του εύρους κίνησης (6). Ο Mimura και συν. κατέγραψαν ότι η ευλυγισία της ΟΜΣΣ και, κατά συνέπεια το εύρος της κίνησης, μειωνόταν σε δισκικό εκφυλισμό, λόγω της αύξησης του μεγέθους των επιφυσιακών πλακών και της μείωσης του ύψους του ΜΔ, με συνοδό απώλεια των μεγαλομοριακών συνδέσεων του ΠΠ (63). Ο Goel διαπίστωσε ότι η μηχανική φόρτιση στην ΟΜΣΣ διαβιβάζεται συνήθως στις επιφυσιακές πλάκες, περισσότερο στο περιφερειακό και λιγότερο στο κεντρικό τμήμα του σπονδυλικού σώματος (39). Ο Iencean παρατήρησε πως, όταν η ενδοδισκική πίεση αυξάνεται, ο εκφυλισμός και η δισκοκήλη παρουσιάζονται και εξελίσσονται σε χαμηλότερες πιέσεις από τους υγιείς δίσκους (64). Υπάρχει συνεπώς μια ορισμένη κρίσιμη πίεση για το ύψος του ΜΔ πάνω από την οποία ο ΙΔ δεν αντιδρά

αποτελεσματικά στη δύναμη που εφαρμόζεται, με αποτέλεσμα τη ρήξη. Ο Umehara και συν. ανέφεραν ότι ο ΙΔ στους εκφυλισμένους δίσκους ήταν σαφώς επηρεασμένος και ότι ο συντελεστής ελαστικότητάς του ήταν χαμηλότερος στο οπίσθιο έξω τμήμα του ΜΔ (65). Άλλες μελέτες από τον Fujita και συν. έχουν δείξει ότι ο εκφυλισμένος δίσκος είχε μειωμένη δυνατότητα αντίστασης σε εφαρμοσμένη πίεση και ότι κυρίως υπεύθυνο γι' αυτό θεωρείτο το έσω τμήμα του ΙΔ (66). Επίσης έχει προταθεί ότι η εφαρμοσμένη πίεση μπορεί να μειώσει την έκφραση του τύπου II κολλαγόνου και να οδηγήσει περαιτέρω στην αποδιοργάνωση του ΙΔ (67).

Η μηχανική αντοχή του ΜΔ συσχετίζεται με την γλοιοελαστικότητα που παρέχουν οι πρωτεογλυκάνες και οι συνδέσεις τους εντός του ΜΔ. Οι πρωτεογλυκάνες είναι υδρόφιλα, αρνητικά φορτισμένα μακρομόρια και αποτελούνται από μια πρωτεΐνη που συνδέεται με έναν ολιγοσακχαρίτη (14). Τα χαρακτηριστικά τους επιτρέπουν την διατήρηση σταθερής ατμοσφαιρικής πίεσης στο εσωτερικό του ΜΔ και τη ρύθμιση της ώσμωσης του ύδατος προς τον ΠΠ (5). Ο Urban και συν. διαπίστωσαν ότι το ποσό ενυδάτωσης μέσα στο ΜΔ ήταν αντιστρόφως ανάλογο προς την εφαρμοσμένη πίεση (24). Ιδιαίτερης αναφοράς χρήζει το γεγονός ότι η περιεκτικότητα σε πρωτεογλυκάνες και νερό του ΜΔ καταγράφηκαν μειωμένα σε όλη την σπονδυλική στήλη σε ασθενείς με εκφυλισμένους δίσκους (25,68). Οι εκφυλισμένοι ΜΔ είχαν υψηλότερη συγκέντρωση ινωδονεκτίνης ως απάντηση σε τραύμα, που μεταφράζεται σε αύξηση της πρωτεολυτικής δραστηριότητας (69,70). Η μηχανική πίεση έχει αποδειχθεί επίσης ότι αυξάνει την δραστηριότητα MMP-2 και 9 και ιντερλευκίνης-6 (IL-6) στον χόνδρινο ιστό, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει, ως μια σαφώς καταβολική δραστηριότητα, στην αποδυνάμωση του ΜΔ (71,72). Στις διαδικασίες αυτές έχουν ρόλο και άλλες κυτοκίνες, όπως αραχιδονικό οξύ, προσταγλαδίνη E2, θρομβοξάνη, φωσφολιπάση και IL-1.

Εκτός από τους προαναφερθέντες μηχανισμούς, ο Brisby και συν. διαπίστωσε ότι τα δύο τρίτα των ασθενών με οσφυϊκή δισκοκήλη και ριζιτοπάθεια είχαν μια αύξηση στα αντισώματα κατά γλυκοσφιγγολιπιδίων, που θέτουν το ερώτημα της αυτοάνοσης διαδικασίας στα πλαίσια δημιουργίας μιας δισκοκήλης (73). Η θεωρία της αυτοάνοσης αντίδρασης βασίσθηκε στην ιδιαιτερότητα της δομής του ΠΠ ήδη από την εμβρυϊκή ηλικία: δεν έχει τροφοφόρα αγγεία. Με την έκθεσή λοιπόν τμημάτων μιας ανάγγειας δομής στη συστηματική κυκλοφορία, αυτά αναγνωρίζονται ως ξένα αντιγόνα. Παρατηρήσεις προς αυτή την κατεύθυνση αποτέλεσαν η αύξηση των λεμφοκυττάρων στους λεμφαδένες σε ένεση αυτόλογου ΠΠ σε κουνέλια και η αύξηση ανοσοσφαιρινών σε προπίπτοντες ΜΔ. Μια άλλη ομάδα συντακτών έδειξε ότι υπάρχουν συμπλέγματα αντιγόνου-αντισώματος παρόντα στον ΜΔ, αν και κανένα συμπέρασμα δεν συνήχθη σχετικά με την κλινική σημασία τους (74). Η θεωρία του αυτοάνοσου μηχανισμού στην οσφυϊκή δισκοκήλη παραμένει υπό αίρεση και απαιτεί περαιτέρω μελέτη.

Το ενδοδισκικό περιβάλλον αποτελεί συνεπώς ένα ευρύ πεδίο μελέτης για την αναζήτηση των υπεύθυνων γεγονότων σχετικά με την εμφάνιση δισκοκήλης στην ΟΜΣΣ. Ξεκινώντας από το εξωτερικό τμήμα του ΜΔ, έχουν καταγραφεί 3 τύποι ρωγμών στον ΙΔ: περιφερειακή ρήξη πεταλίων περιορισμένης και μεγάλης έκτασης και ακτινωτές σχισμές (26). Συναντώνται όλο και περισσότερο μετά από την ηλικία των 10 ετών, ειδικά στην κατώτερη ΟΜΣΣ και με αιχμή στην μέση ηλικία (75). Εμβιομηχανικές και ιστολογικές μελέτες διαπίστωσαν ότι οι ρωγμές αυτές συσχετίζονται με τους συνεχείς μικροτραυματισμούς και με τον εκφυλισμό του ΠΠ, αλλά δεν είναι σαφής η χρονική ακολουθία των γεγονότων (76,77,78). Και οι 3 τύποι ρωγμών εξελίσσονται πιθανώς ανεξάρτητα ο ένας από τον άλλον με την πάροδο της ηλικίας (79).

Οι πρωτεογλυκάνες παράγονται από τα χονδροκύτταρα του ΜΔ και καθορίζουν το βαθμό ενυδάτωσης του ΠΠ συγκρατώντας τα μόρια του νερού, χάρη στο σχηματισμό

μορίων αγκρεκάνης (80,81,82,83,84,85,86), η οποία, λόγω του υψηλού ανιονικού περιεχομένου (χονδροϊτίνη, κερατάνη), παρέχει τις ωσμοτικές ιδιότητες που απαιτούνται για να αντισταθούν οι ΜΔ στη συμπίεση. Η σύσταση του ΠΠ σε πρωτεογλυκάνες εξαρτάται από τον ρυθμό παραγωγής και αποδόμησής τους. Έτσι σε συνθήκες αυξημένης παραγωγής πρωτεογλυκανών, ο ΠΠ διατηρεί την συμπεριφορά υγρού και οδηγεί σε αποτελεσματική διαχείριση των φορτίων από τον ΜΔ, ενώ σε συνθήκες μειωμένης παραγωγής ή/και αυξημένου καταβολισμού των πρωτεογλυκανών, μεταπίπτει σε πιο στέρεο ιστό με μειωμένη δυνατότητα διαχείρισης φορτίων και πιθανή κατάληξη τον εκφυλισμό και την κήλη του μεσοσπονδύλιου δίσκου (15,33,38). Πιο συγκεκριμένα και αναζητώντας τα αρχικά στάδια της διαδικασίας, η έναρξη προσβολής των πρωτεογλυκανών αφορά στην παιδική ηλικία, και προοδευτικά η περιεκτικότητα μειώνεται, ειδικά στον ΠΠ (87,88). Παρουσιάζεται συγχρόνως μία αύξηση στην περιεκτικότητα σε κολλαγόνο τύπου II και λιγότερο τύπου I στα εσωτερικά τμήματα. Η διαδικασία είναι αργή εξαιτίας του περιορισμού του ΠΠ από ΙΔ και επιφυσιικές πλάκες. Επιπλέον, οι αντιδράσεις μεταξύ του κολλαγόνου και της γλυκόζης οδηγούν σε πρόσθετες διασυνδέσεις που δίνουν στους παλαιούς δίσκους τη χαρακτηριστική κίτρινη-καφέ εμφάνισή τους (89). Η αυξανόμενη διασύνδεση εμποδίζει τις επανορθωτικές διαδικασίες και με την πάροδο της ηλικίας αυξάνεται η πυκνότητα των προσβεβλημένων μακρομορίων, με τελικό αποτέλεσμα την μειωμένη ισχύ συνολικά του ΜΔ (90).

ΜΕΤΑΛΛΟΠΡΩΤΕΪΝΑΣΕΣ (MMPs)

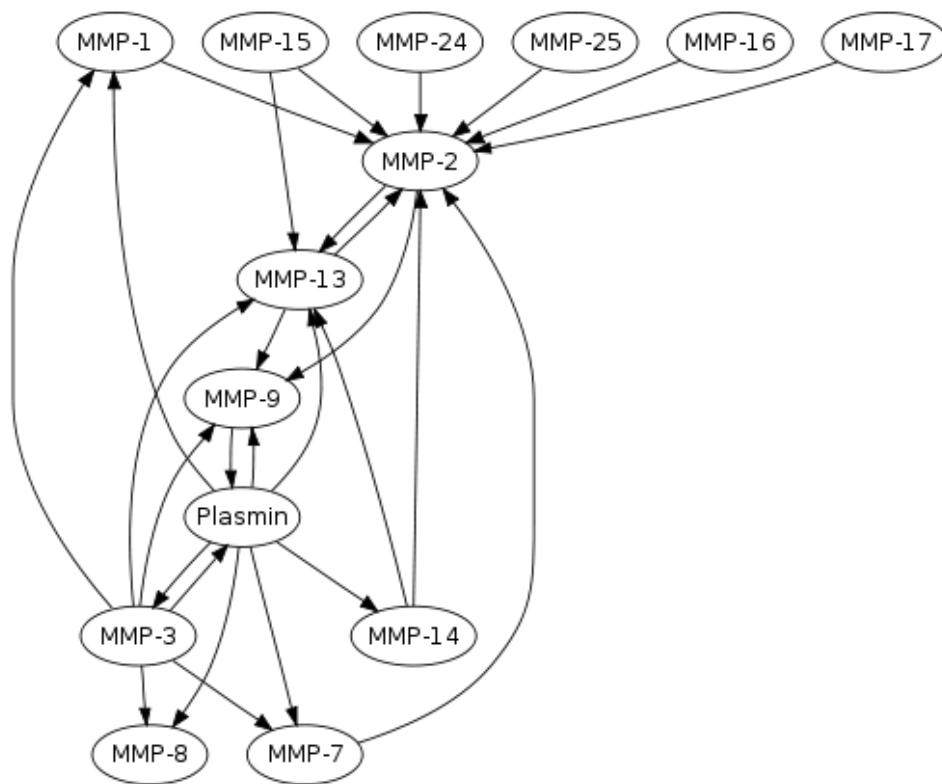
Πρωτεογλυκάνες και ίνες κολλαγόνου στην θεμέλια ουσία του ΜΔ αποτελούν το υπόστρωμα για τις ματριξίνες (matrixins) ή μεταλλοπρωτεϊνάσες ή μεταλλοπρωτεϊνάσες του εξωκυττάριου στρώματος (matrix metalloproteinases, extracellular matrix metalloproteinases-MMPs) (68,91,92,93). Πρόκειται για πρωτεολυτικά ένζυμα και συγκεκριμένα ενδοπεπτιδάσες με κύριο χαρακτηριστικό το μεταλλικό ιόν στην οργανική τους δομή-κυρίως τον ψευδάργυρο, γεγονός που παρέχει σταθερότητα και άρτια ενζυμική ικανότητα. Ανήκουν στην μεταλλοψευδαργυρική υπεροικογένεια των πρωτεασών (metzincin super-family), όπως και οι ρεπρολυσίνες, σεραλυσίνες και αζτακίνες. Στις MMPs περιλαμβάνονται 24 μέλη (94,95). Ανακαλύφθηκαν το 1962 από τους Jerome Gross και Charles Lapière ως ένζυμα αποδόμησης των ινών του κολλαγόνου (96). Ακολούθησε το 1968 η απομόνωσή τους από το δέρμα και η παρατήρηση ότι συντίθεντο ως προενζυματικές μορφές (88,97). Η οργανική δομή της μεταλλοπρωτεϊνάσης περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1986, 11 χρόνια μετά την απομόνωσή της από αρθρικό υγρό ασθενούς με ρευματοειδή αρθρίτιδα.

Στο εξωκυττάριο στρώμα τρεις ομάδες μεγαλομορίων αποτελούν το υπόστρωμα των MMPs:

1. Δομικές πρωτεΐνες/κολλαγόνο και ελαστίνη
2. Κολλώδεις γλυκοπρωτεΐνες
3. Στιβάδα γέλης πρωτεογλυκανών και υαλουρονικού οξέος

Οι παραπάνω ενώσεις συγκεντρώνονται στην διάμεση μήτρα (κολλαγόνο τύπου I,III,V, ελαστίνη, φιμπρονεκτίνη, πρωτεογλυκάνες, υαλουρονικό οξύ) ή στην βασική μεμβράνη (κολλαγόνο τύπου IV, λαμινίνη, πρωτεογλυκάνες). Όλα τα παραπάνω αποτελούν τον εξωκυττάριο χώρο που διεθνώς καλείται extracellular matrix.

Η σύνθετη διαδικασία ενεργοποίησης των MMPs απεικονίζεται περιληπτικά στο **σχήμα 1**. Ο μηχανισμός ενεργοποίησης δεν έχει πλήρως αποσαφηνισθεί και έχουν προταθεί διάφορες θεωρίες, με κοινό χαρακτηριστικό την μεταξύ τους αλληλεπίδραση και την συμμετοχή της πρωτεάσης Πλασμίνης (Plasmin).



Σχήμα 1. Πιθανή διαδικασία ενεργοποίησης MMPs

Η καταλυτική δραστηριότητα των MMPs ρυθμίζεται από 4 ιστικούς αναστολείς που αποτελούν την οικογένεια των TIMPs (tissue inhibitor of metalloproteinases) και, σε μικρότερο βαθμό, από την α2-μακροσφαιρίνη. Η δομή των TIMPs είναι σταθερή χάρη σε 12 ομάδες κυστεΐνης που σχηματίζουν 6 δεσμούς θείου. Κάθε μόριο των TIMPs έχει δύο

διακεκριμένες περιοχές: την ακραία περιοχή-N που συνεισφέρει στην ανασταλτική ικανότητα και την ακραία περιοχή-C που συνδέεται με την ακραία περιοχή-C ορισμένων MMPs. Οι TIMPs αναστέλλουν τη δραστηριότητα των MMPs μέσω του σχηματισμού ενός συμπλέγματος με κάθε ένζυμο. Η σύνδεση αυτή είναι τόσο ισχυρή που είναι σχεδόν αδύνατο να λυθεί. Γίνεται με μοριακή σχέση 1:1. Κάθε TIMP διαθέτει αρκετές θέσεις σύνδεσης με τις MMPs. Ανεξάρτητα από την ανασταλτική τους δράση προς τις μεταλλοπρωτεϊνάσες, οι TIMPs αποτελούν επίσης αυθεντικούς παράγοντες ανάπτυξης (growth factors) για πολλά κύτταρα. Οι ουσίες αυτές συμμετέχουν στον μετασχηματισμό των ινοβλαστών του εμβρύου και στην πρόοδο του κυτταρικού κύκλου. Η δράση τους εξασφαλίζεται από πολλούς υποδοχείς στην επιφάνεια των κυττάρων.

Βάσει λειτουργικής ειδικότητας και δομικών χαρακτηριστικών οι MMPs ταξινομούνται σε έξι κατηγορίες:

A. Κολλαγενάσες διάμεσου ιστού: Αποδόμηση της τριπλής έλικας των ινών κολλαγόνου σε οστίτη και ινοχόνδρινο ιστό: MMPs 1, 8, 13, 18.

B. Ζελατινάσες: MMPs 2, 9.

Γ. Στρωμελυσίνες : Αποδόμηση μόνο πρωτεϊνών θεμέλιας ουσίας και όχι ινών κολλαγόνου: MMPs 3, 10, 11.

Δ. Μεμβρανικού τύπου: MMPs 14, 15, 16, 17, 24, 25.

E. Ματριλυσίνες

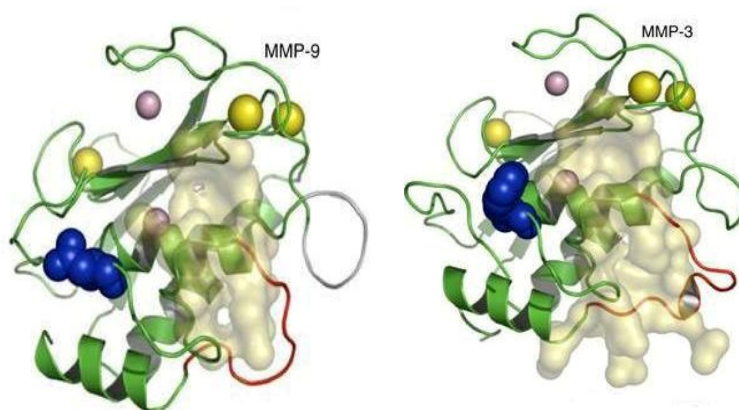
ΣΤ.Λοιπές

Η βασική δομή της MMP αποτελείται από 3 μέρη: προπολυπεπτιδική αλυσίδα με 80 αμινοξέα, καταλυτικό δεσμό (κέντρο του ενζύμου) με 170 αμινοξέα και το μεταλλικό ιόν (συνήθως Zn), καρβοξυτελικό άκρο με 200 αμινοξέα (**Εικ.9**). Επιπρόσθετα αναγνωρίζονται συνδετική πολυπεπτιδική αλυσίδα, ψευδαργυρικός δεσμός και μοτίβο

κυστεΐνης, που, σε συνδυασμό με τον ψευδάργυρο, διατηρεί την μεταλλοπρωτεΐνάση σε ανενεργή μορφή.

Οι MMPs έχει ανακαλυφθεί ότι συμμετέχουν σε πολλές φυσιολογικές και παθολογικές βιολογικές διαδικασίες όπως η εμβρυϊκή ανάπτυξη, η μορφογένεση, η κυτταρική ανάπτυξη και η αναπαραγωγή, η λύση και η αναδιαμόρφωση ιστών (αποδόμηση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας και των βασικών μεμβρανών), η πρωτεολυτική ενεργοποίηση αυξητικών παραγόντων, η ωορρηξία, η οστική αναδιαμόρφωση, η αγγειογένεση, η επούλωση τραυμάτων, καθώς και η κίρρωση, η ρευματοειδής αρθρίτιδα, η αθηροσκλήρυνση, το πνευμονικό εμφύσημα, η μυοκαρδιοπάθεια, τα ανευρύσματα και η μετάσταση όγκων (95).

Οι MMPs 1, 3, 9 θεωρούνται ότι ενέχονται στην παθογένεια της οσφυϊκής δισκοκήλης. Το τελικό αποτέλεσμα αφορά σε αύξηση του καταβολισμού των πρωτεογλυκανών και του κολλαγόνου και σε απώλεια του ύψους και της ελαστικότητας του ΜΔ (81,94,98,99).



Εικ.9. Η στεreoχημική δομή των μεταλλοπρωτεΐνασών 9 και 3

ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΜΕΣΟΣΠΟΝΔΥΛΙΟΥ ΔΙΣΚΟΥ

Οι προσβεβλημένοι ΜΔ φαίνεται ότι, εκτός από αυξημένη δραστηριότητα MMPs, σχηματισμό ρωγμών στον ΙΔ και αυξημένα επίπεδα καταβολικών κυτοκινών, παρουσιάζουν εντούτοις στοιχεία επανορθωτικών μηχανισμών εντός της θεμέλιας ουσίας (72,87,96,97,100,101,102,103,104). Εντούτοις, οι συνεχείς καταπονήσεις ενός δίσκου δεν επιτρέπουν ουσιαστικά ποτέ πλήρη αποκατάσταση των αλλοιώσεων. Οι ρωγμές στον εξωτερικό ΙΔ πληρώνονται με κοκκιωματώδη ιστό, αλλά δεν αναδιαμορφώνονται όπως στον οστίτη ιστό, πιθανώς επειδή ο αραιός πληθυσμός κυττάρων αδυνατεί να αποκαταστήσει τις μεγάλες δέσμες ινών κολλαγόνων του ΙΔ ή να τις αντικαταστήσει διατηρώντας την ίδια αρχιτεκτονική και τις αντίστοιχες μηχανικές ιδιότητες (19,90,105). Οι εργασίες αποκατάστασης του κολλαγόνου στον αρθρικό χόνδρο διαρκούν περίπου 100 έτη και θα μπορούσε να είναι ακόμα μεγαλύτερης διάρκειας στα τμήματα του ΜΔ (106). Για τις πρωτεογλυκάνες είναι πιο σύντομος, ενδεχομένως 20 έτη, ενώ κάποιας μορφής αναγέννηση του ΠΠ έχει παρατηρηθεί σε νεαρής ηλικίας πειραματόζωα (90,107). Ο εκφυλισμός του ΜΔ γίνεται μη αναστρέψιμη με υπέρβαση των ορίων των επανορθωτικών μηχανισμών η οποία ξεκινά από το έσω τμήμα του ΙΔ ή τις επιφυσιακές πλάκες (38,105).

Συμπερασματικά και βάσει των προαναφερθέντων, θα μπορούσαμε να προβληματίσουμε με τα παρακάτω σημεία:

- Ο εκφυλισμός του ΜΔ έχει δύο-με άγνωστη χρονική ακολουθία-σκέλη: αλλαγή της ζελατινώδους δομής σε ινώδη για τον ΠΠ και σχηματισμός ρήξεων στον ΙΔ.
- Η κατάλληλη εφαρμογή συνδυασμού κάμψης – στροφής – πίεσης για ορισμένο χρονικό διάστημα μπορεί να οδηγήσει σε πρόπτωση του ΜΔ (in vitro μοντέλο). Εντούτοις, η

κλινική εμπειρία καταγράφει ότι οι περισσότερες περιπτώσεις πρόπτωσης ΜΔ δε περιλαμβάνουν ιστορικό τραύματος.

- Ο εκφυλισμός του ΜΔ προάγεται από συνθήκες κακής θρέψης του ΜΔ και επασβέστωσης των παρακείμενων επιφυσιακών πλακών με την πάροδο της ηλικίας, συνεπικουρούμενοι από την ανάγγεια φύση του ΜΔ. Οι αλλαγές του δισκικού περιβάλλοντος επιδρούν τελικά στην μηχανική συμπεριφορά του ΜΔ. Εντούτοις, η προσβολή της θεμέλιας ουσίας (extracellular matrix) δεν οδηγεί πάντοτε σε δισκοκήλη.
- Ο πιθανός ρόλος της φλεγμονής στην δισκική εκφύλιση και στην δισκογενή ριζιτοπάθεια απαιτεί πληρέστερη ιστολογική επιβεβαίωση.
- Οι MMPs θεωρούνται ότι ενέχονται στην παθογένεια της οσφυϊκής δισκοκήλης και αποτελούν στόχους σε πειραματικό στάδιο για αναστολή του δισκικού εκφυλισμού. Ενδεικτική του ερευνητικού ενδιαφέροντος η εναρκτήρια ομιλία της παγκόσμιας διάσκεψης για τις μεταλλοπρωτεΐνες του ιδρύματος ερευνών Gordon (The 2005 MMP Gordon Research Conference): "We are at the end of the beginning in understanding MMP biology" (Είμαστε στο τέλος της αρχής κατανόησης της βιολογίας των μεταλλοπρωτεϊνών).

ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Ο στόχος της παρούσας μελέτης είναι να προσδιορίσει το βαθμό συσχέτισης των δομικών αλλαγών της θεμέλιας ουσίας του ΜΔ με την ηλικία και τη μορφή της δισκοκήλης σε ασθενείς που, βάσει κλινικών και απεικονιστικών ευρημάτων, χειρουργήθηκαν για οσφυϊκή δισκοκήλη. Οι δομικές αυτές αλλαγές περιλαμβάνουν την μορφολογία του ΙΔ και των χονδροκυττάρων, τα είδη εκφύλισης της θεμέλιας ουσίας και την ανοσοέκφραση των μεταλλοπρωτεϊνών. Κύριο γνώρισμα της συγκριτικής μελέτης είναι ότι εκτελείται μεταξύ δειγμάτων ζώντων ασθενών για την πλησιέστερη προσέγγιση των αιτιών και συνθηκών δημιουργίας μιας οσφυϊκής δισκοκήλης.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Για τον σκοπό της παρούσας μελέτης μελετήθηκαν τα δείγματα δισκοκήλης 43 ασθενών (28 άνδρες και 15 γυναίκες, μέση ηλικία 47 έτη, εύρος 21-76). Η διάγνωση σε όλους ήταν οσφυϊκή δισκοκήλη και η προεγχειρητική σημειολογία περιελάμβανε άλγος χωρίς πάρεση ρίζας ή ορθοκυστικές διαταραχές. Η χειρουργική θεραπεία επελέγη βάσει της κλινικής εικόνας, των ευρημάτων από τη μαγνητική τομογραφία και της απόφασης του ασθενούς. Οι προσπελάσεις περιελάμβαναν μικροδισκεκτομή και πεταλεκτομία. Η επιλογή της χειρουργικής τεχνικής, προεγχειρητικά, επιλέχθηκε βάσει της απεικόνισης αλλά προσαρμόστηκε και σε διεγχειρητικούς προβληματισμούς που προέκυψαν, αφού σε 6 ασθενείς η μικροδισκεκτομή επεκτάθηκε σε πεταλεκτομία. Συνοδά ακολούθησε τρηματεκτομή για απελευθέρωση της εξερχόμενης ρίζας. Η δισκική νόσος που χειρουργήθηκε αφορούσε σε ένα επίπεδο σε κάθε ασθενή. Οι μορφές της δισκοκήλης ταξινομήθηκαν ως πρόπτωση (βαθμός δισκοκήλης: 1), έκθλιψη (βαθμός δισκοκήλης: 2) και απόσπαση (βαθμός δισκοκήλης: 3) σύμφωνα με την απεικόνιση στη μαγνητική τομογραφία (31). Η κήλη του ΜΔ αφορούσε στα εξής διαστήματα: Ο1-Ο2 σε 2 ασθενείς, Ο2-Ο3 σε 2, Ο3-Ο4 σε 2, Ο4-Ο5 σε 14 και Ο5-Ι1 σε 23 ασθενείς.

ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ

Το υλικό από τη χειρουργική εκτομή του δίσκου μονιμοποιήθηκε σε διάλυμα 10% ουδέτερης φορμόλης και επεξεργάστηκε για μικροσκοπική εκτίμηση. Όλο το υλικό από κάθε ασθενή εμβυθίστηκε σε κύβους παραφίνης. Κατόπιν ελήφθησαν ιστολογικές τομές πάχους 4 μm . Διαδοχικές τομές βάφτηκαν με την ειδική χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης, εκτιμήθηκαν στο οπτικό μικροσκόπιο και επεξεργάστηκαν για ανοσοϊστοχημικό έλεγχο.

Η κατηγοριοποίηση των μορφολογικών αλλαγών στα χαρακτηριστικά της θεμέλιας ουσίας, στις τομές αιματοξυλίνης-ηωσίνης, βασίστηκε σε γνωστά συστήματα ταξινόμησης (75,108,109). Οι ιστολογικές αλλοιώσεις καταγράφηκαν ξεχωριστά για ΠΠ και ΙΔ και στην συνέχεια προέκυψε μια μέση τιμή για κάθε παρασκεύασμα δισκοκήλης. Το σύστημα βαθμολόγησης βασίστηκε σε 4 παραμέτρους, που αντιστοιχούν σε διακριτές ιστολογικά αλλοιώσεις :

A. Αθροίσεις χονδροκυττάρων

0=απούσες

1=αυξημένη κυτταροβρίθεια/αθροίσεις δύο χονδροκυττάρων

2=μικρές και μέτριες σε μέγεθος ομάδες

3=μεγάλες ομάδες

B. Σχισμές και ρήξεις

0= απούσες

1= σπάνιες

2= αρκετές

3= άφθονες

Γ. Κοκκιώδης εκφύλιση

0= απούσα

1= σπάνια

2= μέτριας έκτασης

3= μεγάλης έκτασης

Δ. Βλεννώδης εκφύλιση

0= απούσα

1= σπάνια

2= μέτριας έκτασης

3= μεγάλης έκτασης

Κάθε παράμετρος εκτιμήθηκε χωριστά και το άθροισμα των τεσσάρων παραμέτρων αποτέλεσε το άθροισμα ιστολογικής εκφύλισης του ΜΔ (Herniation Degenerative Score:HDS) με μέγιστη τιμή το 12.

ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΕΙΑ

Η ανοσοϊστοχημική μέθοδος έγινε με το σύστημα En Vision (DAKO Corp., Netherlands) και με τη χρήση των μονοκλωνικών αντισωμάτων MMP-1, MMP-3 και MMP-9 (Spring, Bioscience). Τομές 4 μm αποπαραφινώθηκαν σε ξυλένιο και ακολούθως εμβαπτίστηκαν σε διαλύματα αλκοόλης. Η ανάκλιση των αντιγόνων έγινε σε φούρνο μικροκυμάτων για 2 κύκλους 15 λεπτών στα 300W, σε διάλυμα κιτρικού οξέος. Η δραστηριότητα της ενδογενούς υπεροξειδάσης ανεστάλη με διάλυμα υπεροξειδίου του υδρογόνου σε μεθανόλη (0.01M), για 30 λεπτά. Μετά πλύση 5 λεπτών με PBS έγινε

επώαση με τα αντισώματα για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου, σε αραιώση 1:50. Ακολούθησε πλύση με PBS για 10 λεπτά και χρώση με En Vision system και χρωμογόνο diaminobezidine tetrahydrochloride (Sigma Fast DAB tablets, St.Louis, Mo). Τελικά, όλες οι τομές βάφθηκαν με αιματοξυλίνη. Ως μάρτυρας, το πρώτο αντίσωμα αντικαταστάθηκε με ανοσοσφαιρίνη ποντικού ίδιας κατηγορίας. Η ίδια ανοσοϊστοχημική μέθοδος ακολουθήθηκε και με το μονοκλωνικό αντίσωμα MMP-2 (Spring, Bioscience). Ωστόσο, παρά τις επανειλημμένες δοκιμές δεν αναγνωρίστηκε ειδική ανοσοχρώση στα υλικά, ως εκ τούτου δεν μελετήθηκε περαιτέρω. Ο ανοσοϊστοχημικός έλεγχος με τους ανοσοφαινοτυπικούς δείκτες CD31 και CD34 δεν ανέδειξε παρουσία τριχοειδών αιμοφόρων αγγείων εντός ΠΠ και ΙΔ, ως εκ τούτου δεν αποτέλεσαν περαιτέρω αντικείμενο της ερευνητικής εργασίας.

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ

Στην μελέτη έγινε χρήση του Mann-Whitney U test για σύγκριση της έκφρασης των πρωτεϊνών που αναγνωρίστηκαν με τα αντισώματα MMP-1, 3, 9 με τον βαθμό της δυσκοκλήλης, την ηλικία και το HDS. Για τον καθορισμό της σχέσης των μεταλλοπρωτεϊνών μεταξύ των έγινε χρήση του Spearman test. Το επίπεδο της στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε στο $p < 0.05$.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Σαράντα τρία δείγματα ΜΔ ελήφθησαν από 43 ασθενείς που χειρουργήθηκαν για οσφυϊκή δισκοκήλη και όλα παρουσίασαν εκφυλιστικές αλλοιώσεις. Οι ασθενείς ταξινομήθηκαν σε τρεις ηλικιακές ομάδες: κάτω από 30, μεταξύ 30 και 60 και άνω των 60 ετών. Τα ευρήματα περιγράφονται αναλυτικά στους Πίνακες 1 και 2.

Πίνακας 1. Συγκεντρωτικός πίνακας ασθενών (HDS: ιστολογικό άθροισμα εκφύλισης, ΜΔ: μεσοσπονδύλιος δίσκος, Χ/Ο: είδος επέμβασης, Μ: μικροδισκεκτομή, Π: πεταλεκτομία, Α: άρρεν, Θ: θήλυ, MMP %: ποσοστό θετικών χονδροκυττάρων)

ΗΛΙΚΙΑ	ΒΑΘΜΟΣ	HDS	A.M.	ΜΔ	Χ/Ο	ΦΥΛΟ	MMP-1%	MMP-3%	MMP -9%
≤30 ετών	2	7	145727	4 – 5	Μ	Α	20	10	15
	2	8	146026	5 – 1	Μ	Α	30	15	10
	3	10	146797	5 – 1	Μ	Α	35	20	80
	2	8	163940	4 – 5	Μ	Θ	30	10	2
	3	9	164705	5 – 1	Μ	Α	50	30	25
	2	7	165332	4 – 5	Μ	Α	40	5	2
	3	9	165784	5 – 1	Μ	Θ	40	30	20
	3	11	166866	5 – 1	Μ	Α	25	40	35
	2	6	167818	5 – 1	Μ	Α	30	20	20
	3	10	168772	5 – 1	Μ	Α	40	45	40
	2	6	169459	5 – 1	Μ	Α	25	30	25
	2	8	170653	5 – 1	Μ	Θ	30	20	10
	1	4	171404	5 – 1	Μ	Θ	10	0	1
	1	5	165555	5 – 1	Μ	Θ	8	5	2
	3	8	163418	5 – 1	Μ	Θ	50	30	10
30-60 ετών	2	7	144422	4 – 5	Μ	Α	50	50	45
	3	10	144728	2 – 3	Π	Θ	60	95	80

	3	11	144894	4 – 5	M	A	80	85	80
	2	8	145205	1 – 2	Π	A	55	60	30
	3	9	145279	5 – 1	Π	Θ	75	80	20
	3	10	146578	5 – 1	Π	A	70	65	50
	3	10	147245	5 – 1	M	A	80	70	40
	2	10	147411	3 – 4	Π	A	50	45	20
	1	6	147793	5 – 1	M	A	15	20	15
	2	9	147809	5 – 1	M	A	50	40	30
	3	9	147951	4 – 5	M	A	90	70	40
	2	8	148018	4 – 5	M	Θ	60	50	50
	3	8	148392	4 – 5	Π	A	80	70	70
	2	7	148401	5 – 1	M	A	70	60	40
	3	10	148552	5 – 1	Π	A	70	75	45
	3	10	149102	5 – 1	M	A	65	60	40
	3	9	149747	4 – 5	Π	A	60	65	20
	3	8	149858	5 – 1	M	A	70	80	70
	2	8	149874	4 – 5	M	A	40	45	60
>60 ετών	2	8	144346	5 – 1	Π	Θ	70	70	70
	1	8	146568	4 – 5	Π	Θ	20	15	5
	3	10	147515	5 – 1	M	A	80	80	70
	2	9	148023	4 – 5	Π	A	65	75	70
	3	10	148916	3 – 4	Π	A	80	70	70
	1	7	149198	4 – 5	Π	Θ	15	35	80
	3	11	149725	4 – 5	M	A	60	75	20
	1	4	178799	1 – 2	Π	Θ	10	20	35
	1	5	164884	2 – 3	Π	Θ	30	25	20

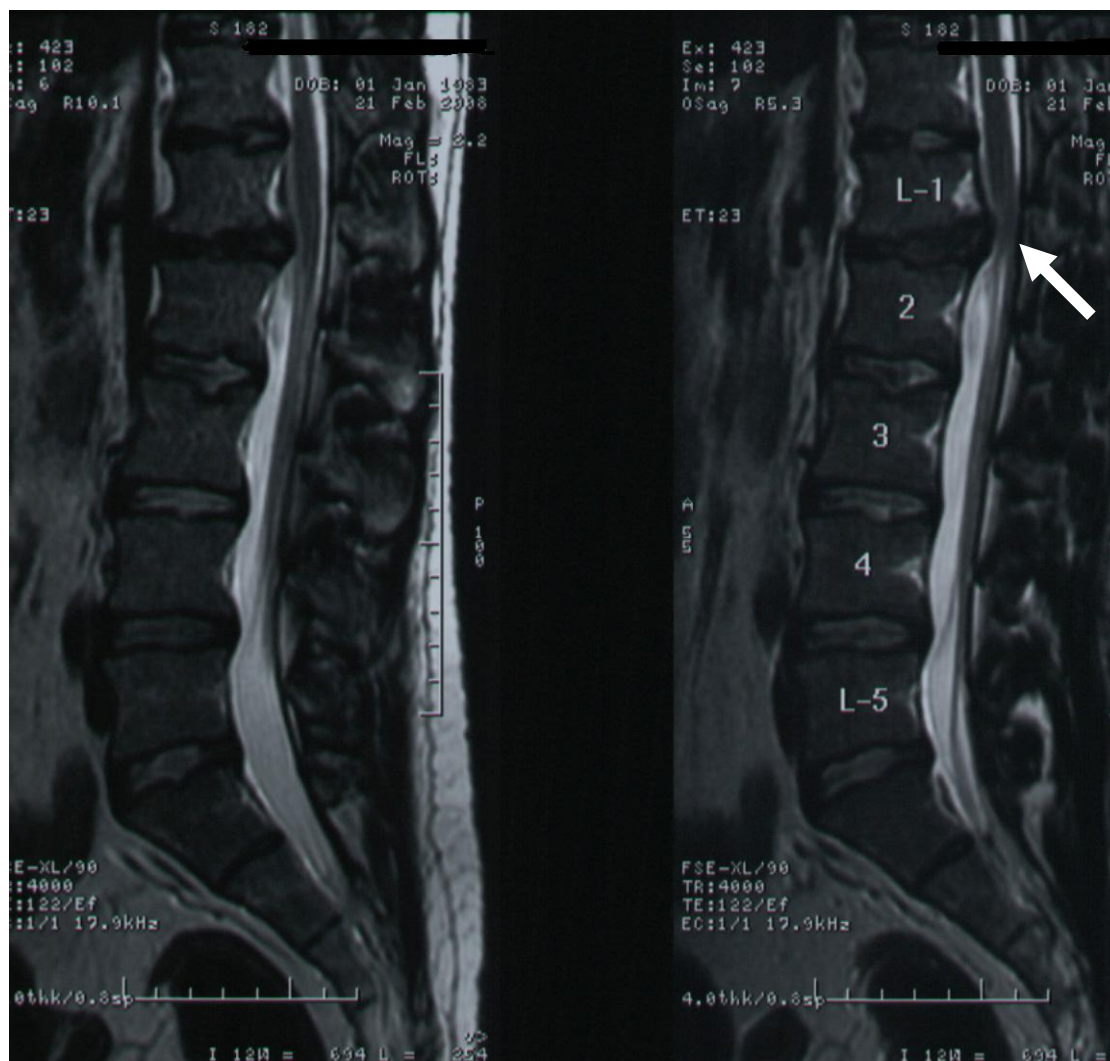
Πίνακας 2. Μέση τιμή (mean) και εύρος διακύμανσης (SD) για άθροισμα ιστολογικής εκφύλισης (HDS) και ανοσοϊστοχημική έκφραση μεταλλοπρωτεϊνών (MMP-1, 3, 9) ως ποσοστό θετικών χονδροκυττάρων σε κάθε δείγμα.

ΗΛΙΚΙΑ	ΒΑΘΜΟΣ ΔΙΣΚΟΚΗΛΗΣ (αριθμός ασθενών)	HERNIATION DEGENERATIVE SCORE (mean +/- SD)	MMP – 1 (% θετικών χονδροκυττάρων)	MMP – 3 (% θετικών χονδροκυττάρων)	MMP – 9 (% θετικών χονδροκυττάρων)
<30y	1(2)	4.5 ± 0.7	9 ± 1.41	2.5 ± 3.5	1.5 ± 0.7
	2(7)	7 ± 0.9	29.3 ± 8.4	15.7 ± 12.3	12 ± 21,29
	3(6)	9.5 ± 1.05	40 ± 13	32.5 ± 13.9	35 ± 21.98
30-60y	1(1)	6	15	20	15
	2(7)	8 ± 1.07	53.6 ± 17.3	50 ± 17.9	39.28 ± 20.13
	3(11)	10 ± 0.93	72.7 ± 17	74 ± 18.1	50.4 ± 20.97
>60y	1(4)	6 ± 1.82	18.75 ± 29.4	25 ± 28	35 ± 29.37
	2(2)	8 ± 1.07	67.5 ± 26.5	72.5 ± 30.3	70 ± 32.5
	3(3)	10.3 ± 0.57	73.3 ± 26.7	76 ± 18.2	53.33 ± 23.87

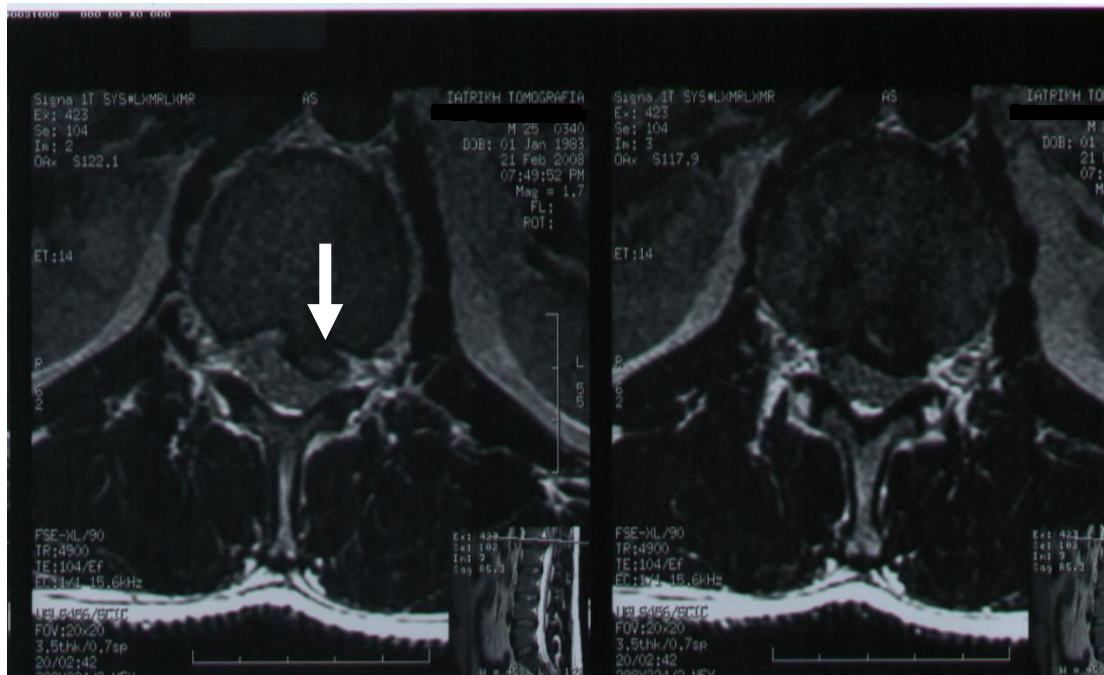
ΚΛΙΝΙΚΑ ΚΑΙ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΤΙΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ

Επτά ασθενείς (7/43, 16.3%) είχαν πρόπτωση ΜΔ (βαθμός 1), δεκαέξι (16/43, 37.2%) έκθλιψη (βαθμός 2) και είκοσι (20/43, 46.5%) απόσπαση τμήματος ΜΔ (βαθμός 3). Δεν παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση της ηλικίας, του φύλου και της προεγχειρητικής σημειολογίας με το βαθμό της δισκοκήλης και την ανοσοέκφραση των μεταλλοπρωτεϊνών. Τα διεγχειρητικά ευρήματα σε όλους τους ασθενείς ήταν σύμφωνα με την προηγηθείσα απεικόνιση με μαγνητική τομογραφία. Στις εικόνες 10-15

διακρίνουμε σε μαγνητική τομογραφία (T2 ακολουθία) μορφές δισκοκήλης που συμπεριελήφθησαν στη μελέτη (η οβελιαία τομή θεωρείται πιο ευαίσθητη από την εγκάρσια τομή στη διάγνωση δισκοκηλών).



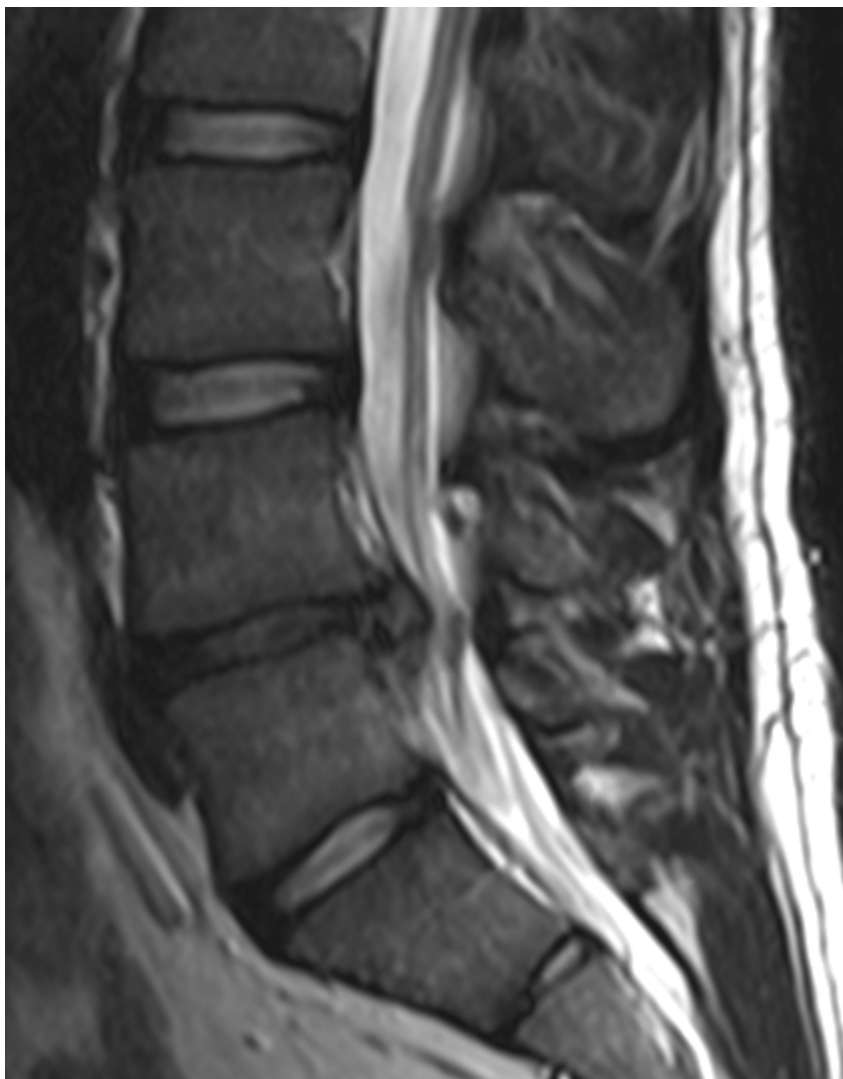
Εικ.10. T2 ακολουθία σε οβελιαίο επίπεδο σε άνδρα ηλικίας 27 ετών, επίπεδο O1-O2, χειρουργήθηκε με μικροδισκεκτομή.



Εικ.11. T2 ακολουθία σε εγκάρσιο επίπεδο σε άνδρα ηλικίας 27 ετών, επίπεδο O1-O2, απόσπαση ΜΔ, η οποία επιβεβαιώθηκε και διεγχειρητικά.



Εικ.12. Δισκοκήλη πρώτου βαθμού σε ασθενή 45 ετών, επίπεδο O4-O5, χειρουργήθηκε με μικροδισκεκτομή.



**Εικ.13. Δισκοκήλη δευτέρου βαθμού σε ασθενή 40 ετών,
επίπεδο O4-O5, χειρουργήθηκε με πεταλεκτομία.**



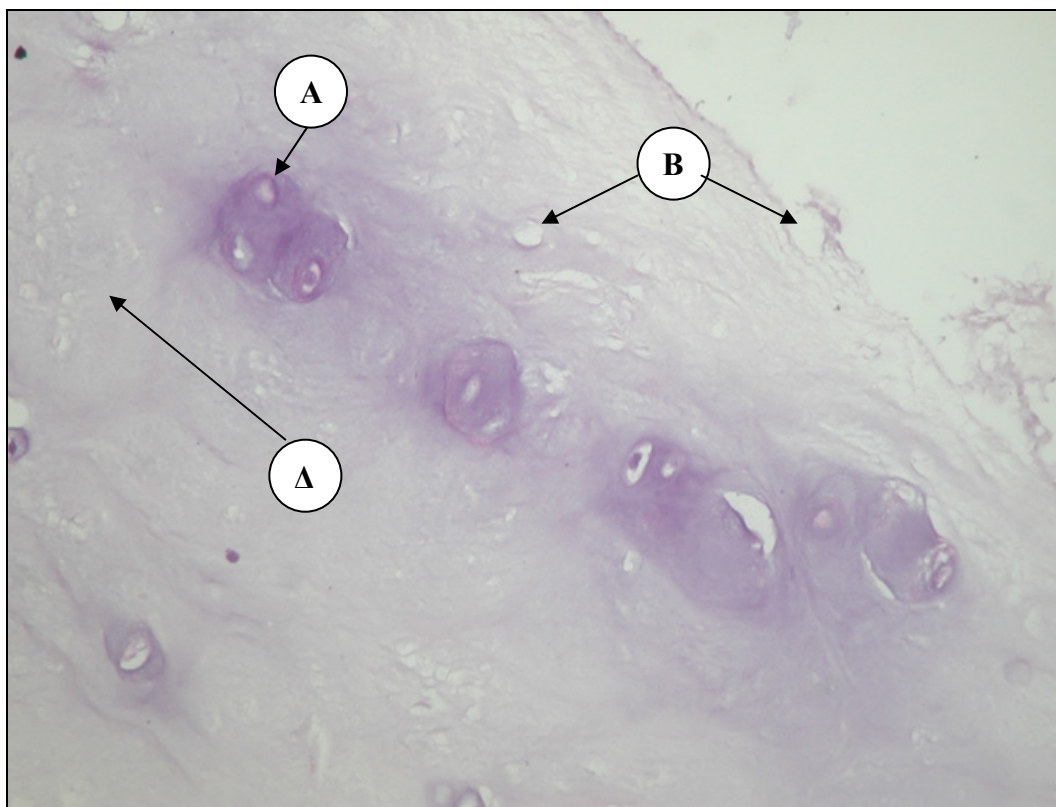
Εικ.14. Δισκοκήλη τρίτου βαθμού σε ασθενή 59 ετών, καταδυνάμενη O5-I1, χειρουργήθηκε με πεταλεκτομία με ελεύθερο δισκικό υλικό με προς τα κάτω προσανατολισμό διεγχειρητικά.

Εικ.15. Δισκοκήλη τρίτου βαθμού σε ασθενή 33 ετών, επίπεδο O4-O5, χειρουργήθηκε με πεταλεκτομία.



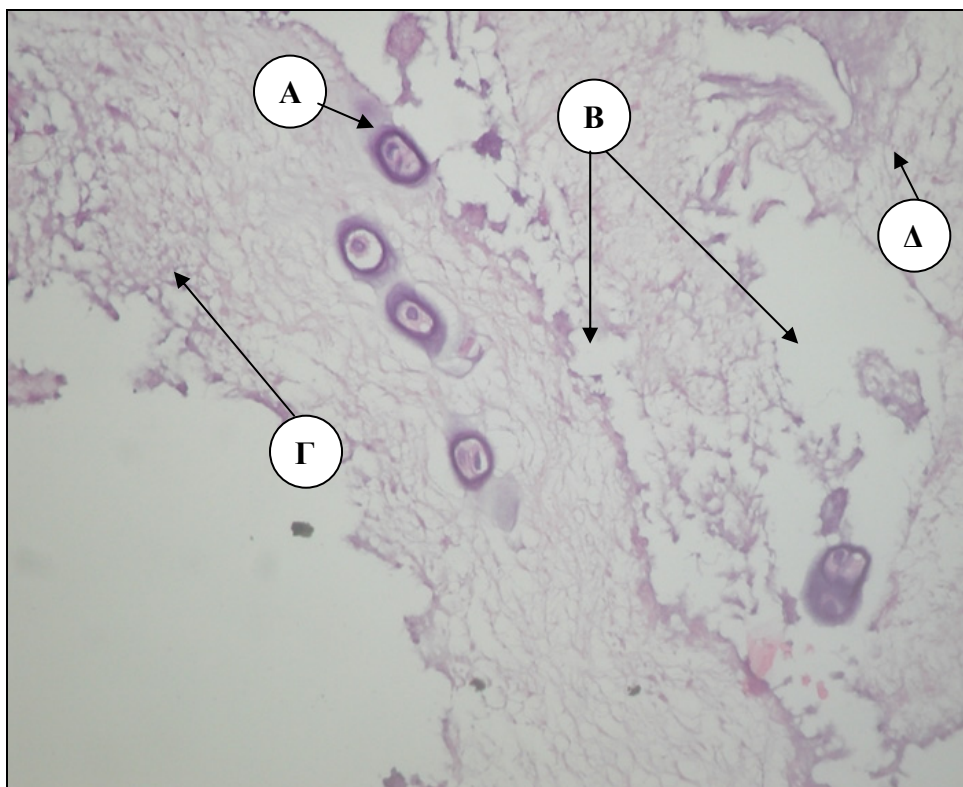
ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΛΛΟΙΩΣΕΙΣ

Το άθροισμα ιστολογικής εκφύλισης του δισκικού υλικού (HDS) χαρακτηρίστηκε ως χαμηλό (0-4), μέτριο (5-8) και υψηλό (9-12). Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στους **Πίνακες 1 και 2**, βάσει ηλικίας, βαθμού δισκοκήλης και HDS. Από την μελέτη δεν προέκυψε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ηλικιακών ομάδων και του HDS (<30 ετών με 30-60 $p=0.07$, <30 με >60 $p=0.76$, 30-60 με >60 $p=0.7$). Παράλληλα, καταγράφηκε μια εντονότερη εικόνα εκφύλισης, όπως υπολογίσθηκε βάσει της προαναφερθείσας ημιποσοτικής μεθόδου, με αυξανόμενο βαθμό δισκοκήλης ($p<0.0001$). Εστιάζοντας επίσης στον ίδιο βαθμό δισκοκήλης οι παράμετροι των ιστολογικών αλλοιώσεων (αθροίσεις χονδροκυττάρων, σχισμές και ρήξεις, κοκκιώδης και βλεννώδης εκφύλιση) καταγράφηκαν εντονότεροι σε μεγαλύτερες ηλικίες. Στις εικόνες που ακολουθούν περιλαμβάνονται ευρήματα της ιστολογικής μελέτης σχετικά με το HDS (**εικ. 16-19**). Η ένδειξη score αντιστοιχεί στις παραμέτρους του συστήματος βαθμολόγησης.



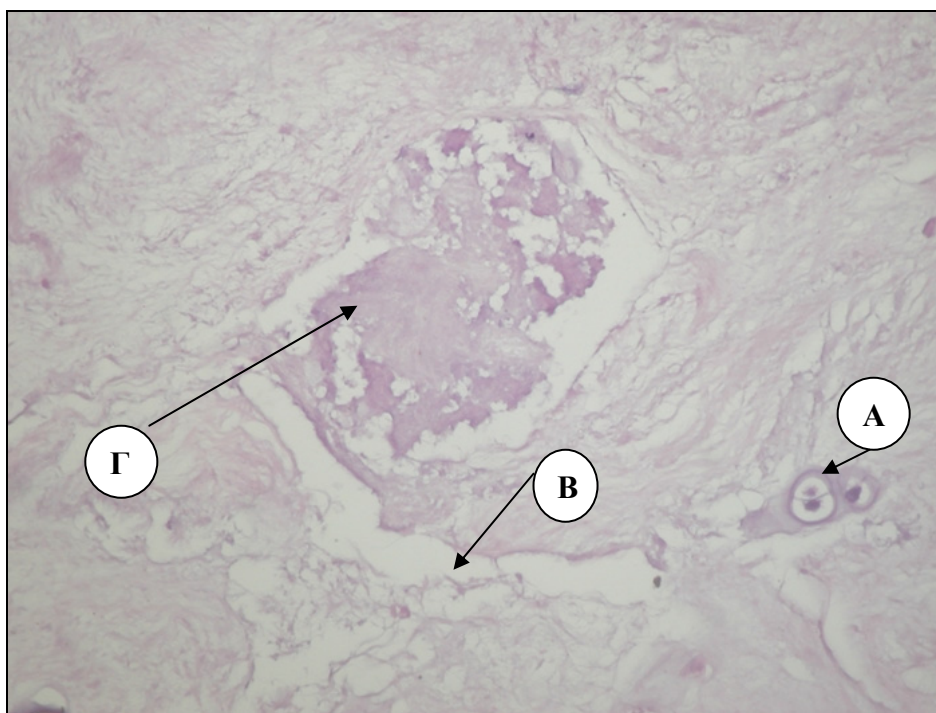
Εικ.16. Ασθενής 27 ετών με έκθλιψη δίσκου/δευτέρου βαθμού δισκοκήλη.

Α. Μικρή ομάδα 3 χονδροκυττάρων=score 2, Β. Σπάνιες ρήξεις=score 1, Γ. Απουσία κοκκιώδεκφύλιση=score 0, Δ. Μέτριας έκτασης βλενώδης εκφύλιση=score 2, HDS=5.



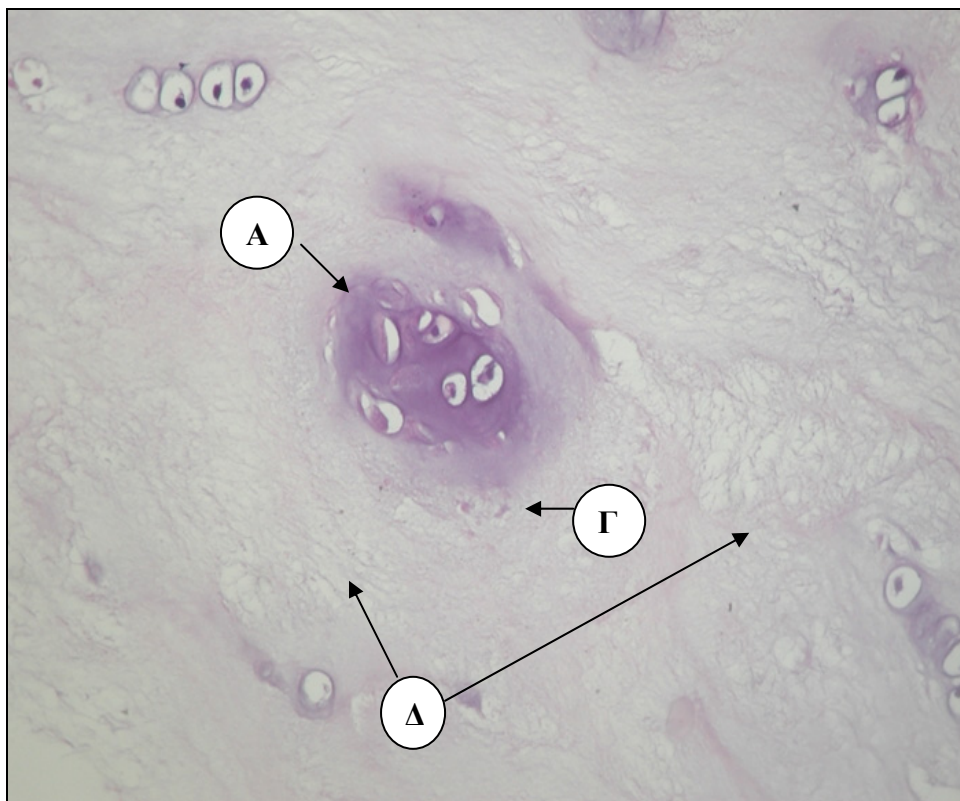
Εικ.17. Ασθενής 67 ετών με απόσπαση δίσκου/τρίτου βαθμού δισκοκήλη.

A. Ομάδα 2 χονδροκυττάρων=score 1, B. Αφθονες ρήξεις=score 3, Γ. Μεγάλης έκτασης κοκκιώδης εκφύλιση=score 3, Δ. Μέτριας έκτασης βλενώδης εκφύλιση=score 2, HDS=9.



Εικ18. Ασθενής 47 ετών με έκθλιψη δίσκου/δευτέρου βαθμού δισκοκήλη.

Α. Ομάδα 2 χονδροκυττάρων=score 1, Β. Άφθονες ρήξεις=score 3, Γ. Μεγάλης έκτασης κοκκιώδης εκφύλιση=score 3, Δ. Απούσα βλεννώδης εκφύλιση=score 0, HDS=7.



Εικ.19. Ασθενής 47 ετών με έκθλιψη δίσκου/δευτέρου βαθμού δισκοκήλη.

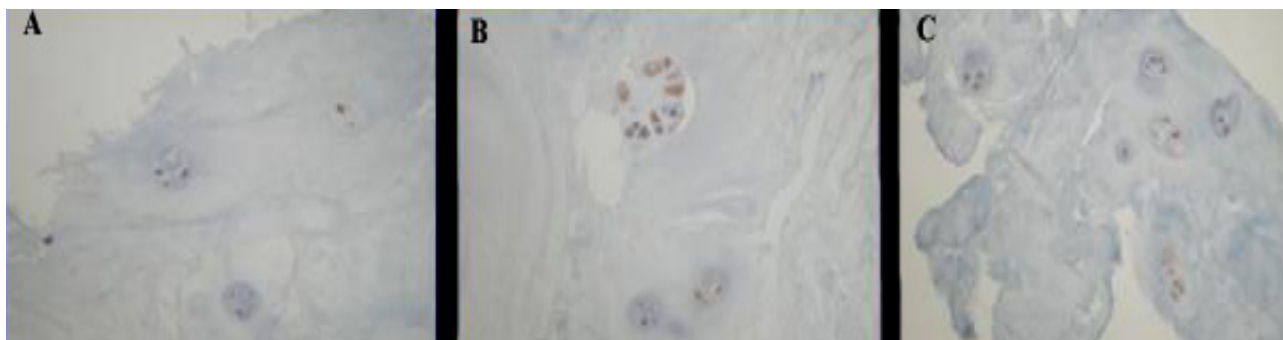
Α. Μεγάλες ομάδες χονδροκυττάρων=score 3, Β. Απουσίες ρήξεις=score 0, Γ. Σπάνια κοκκιώδης εκφύλιση=score 1, Δ. Μέτριας έκτασης βλενώδης εκφύλιση=score 2, HDS=6.

ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ MMP-1 , MMP-3, MMP-9

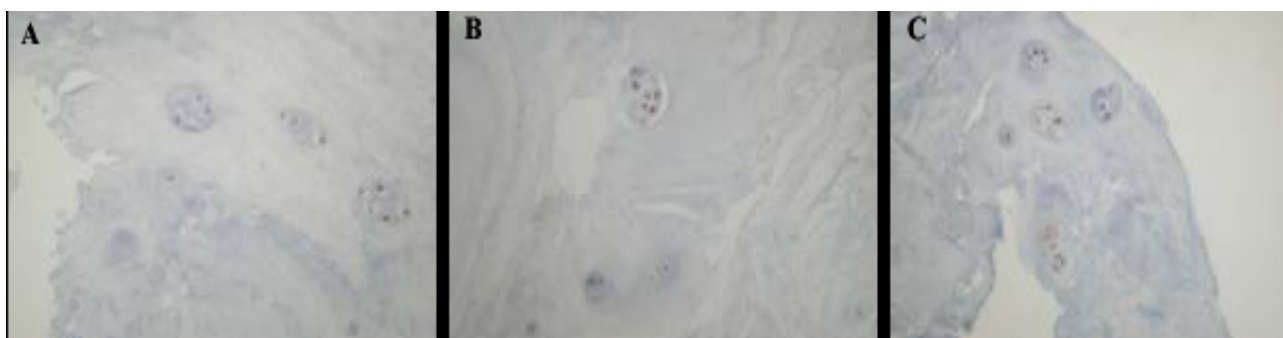
Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στους **Πίνακες 1 και 2**, βάσει ηλικίας, βαθμού δισκοκήλης, HDS και ανοσοέκφρασης ως ποσοστό θετικών χονδροκυττάρων. Γενικά, χονδροκύτταρα με κυτταροπλασματική έκφραση μεταλλοπρωτεϊνών 1, 3 και 9 αναγνωρίστηκαν σε όλα τα δείγματα, σε ΠΠ και ΙΔ. Το ποσοστό των θετικών κυττάρων και η ένταση της ανοσοχρώσης εμφάνιζε διακύμανση ανάλογα με τη θέση των χονδροκυττάρων. Συγκεκριμένα, αυξημένη έκφραση παρατηρήθηκε στον ΠΠ, κοντά σε σχισμές και ρήξεις.

Σχετικά με τη σχέση των παραμέτρων μεταξύ τους καταγράφηκε σειρά παρατηρήσεων. Στην ομάδα ηλικίας <30 ετών αναγνωρίστηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης της MMP-1 με το HDS και τον βαθμό της δισκοκήλης ($p=0.032$, $p=0.004$ αντίστοιχα). Υπήρξε επίσης στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης της MMP-3 με το HDS και τον βαθμό δισκοκήλης ($p=0.007$, $p=0.001$ αντίστοιχα).

Για την ομάδα ηλικίας 30-60 ετών δεν αναγνωρίστηκε στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της έκφρασης της MMP-1 και του HDS ($p=0.078$), αλλά ο συσχετισμός μεταξύ της έκφρασης της MMP -1 και του βαθμού δισκοκήλης ήταν σημαντικός ($p=0.0006$). Σημαντική συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ της έκφρασης της MMP -3 με το HDS και το βαθμό δισκοκήλης ($p=0.033$, $p=0.0002$ αντίστοιχα) (**Εικ. 20, 21**).



Εικ. 20. Ανοσοϊστοχημική έκφραση της MMP-1 σε ασθενείς άνω των 30 με πρόπτωση (A), έκθλιψη (B) και απόσπαση (C) (DABX400).

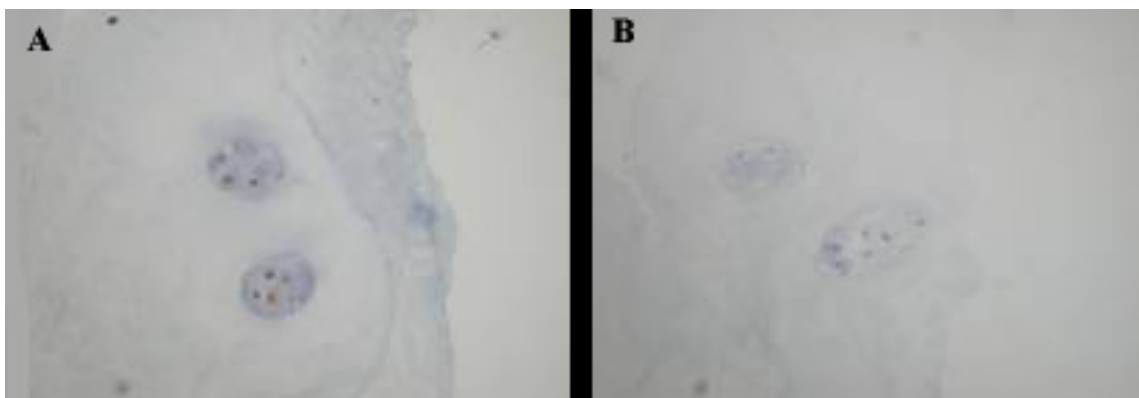


Εικ. 21. Ανοσοϊστοχημική έκφραση της MMP-3 σε ασθενείς άνω των 30 με πρόπτωση (A), έκθλιψη (B) και απόσπαση (C) (DABX400).

Όσον αφορά στην ομάδα των ασθενών πάνω από 60 ετών υπήρξε σημαντική συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης MMP-1 με το HDS και το βαθμό της δισκοκήλης ($p=0.036$, $p=0.015$ αντίστοιχα), ενώ ανάλογα αποτελέσματα προέκυψαν και για τη MMP-3 ($p=0.027$, $p=0.014$ αντίστοιχα).

Στατιστικά σημαντική αναδείχτηκε η χαμηλότερη έκφραση των MMP-1 και MMP-3 στην ομάδα ηλικίας <30 ετών έναντι των άλλων ηλικιακών ομάδων ($p < 0.0001$ και στις δύο περιπτώσεις). Αντίθετα, μη σημαντικός συσχετισμός βρέθηκε μεταξύ της έκφρασης MMP-1 και της αντίστοιχης της MMP-3 στις ηλικιακές ομάδες 30-60 και πάνω από 60 ετών ($p=0.099$, $p=0.22$ αντίστοιχα). Κατά τρόπο ενδιαφέροντα, στις ομάδες ηλικίας

μεγαλύτερες των 30 ετών δεν υπήρξε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της έκφρασης MMP-1 και MMP-3 , ενώ στους ασθενείς νεότερους από 30 ετών η έκφραση της MMP-3 ήταν σημαντικά χαμηλότερη από την έκφραση έκφραση της MMP-1 ($p=0.038$) (Εικ.22).

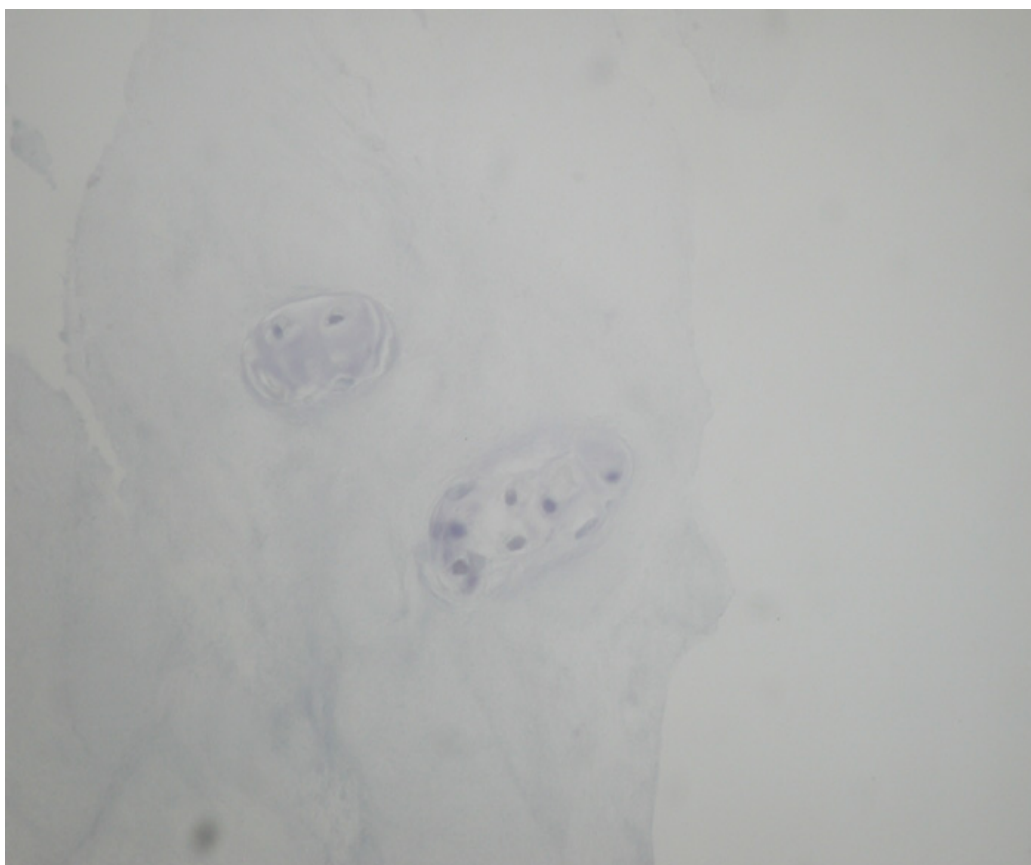


Εικ. 22. Ανοσοϊστοχημική έκφραση της MMP-1 (A) και MMP-3 (B) σε 25 ετών γυναίκα με έκθλιψη δίσκου (DABX400).

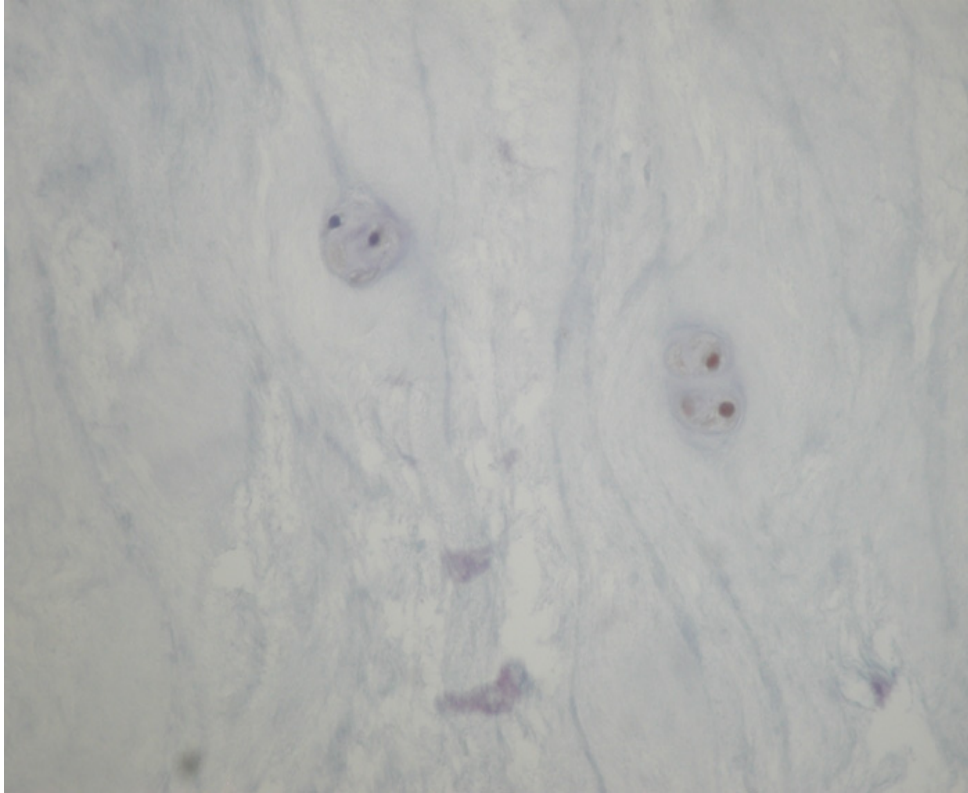
Η ανοσοχρώση για την MMP-9 ήταν ασθενέστερη σε ένταση σε σχέση με την MMP-3 και σε μικρότερο ποσοστό χονδροκυττάρων. Επιπλέον, σε αντίθεση με τις άλλες δύο μεταλλοπρωτεϊνάσες δεν παρουσίασε ποικιλία στην κατανομή. Συγκεκριμένα, δεν αναγνωρίστηκε εντονότερη έκφραση πλησίον σχισμών και περιοχών εκφύλισης, αλλά παρατηρήθηκε ομοιόμορφη χρώση σε όλα τα χονδροκύτταρα που περιλαμβάνονταν στην ιστολογική τομή.

Στατιστικά σημαντική αναδείχτηκε η σχέση έκφρασης της MMP-9 και του βαθμού δισκοκήλης στην ομάδα ηλικίας <30 ετών έναντι των άλλων ηλικιακών ομάδων ($p=0.0037$). Αντίθετα μη σημαντικός συσχετισμός βρέθηκε στις ηλικιακές ομάδες 30-60 και πάνω από 60 ετών ($p=0.13$, $p=0.7$ αντίστοιχα). Σε όλες τις ηλικίες αναγνωρίστηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης της MMP-9 με το HDS ($p=0.0065$).

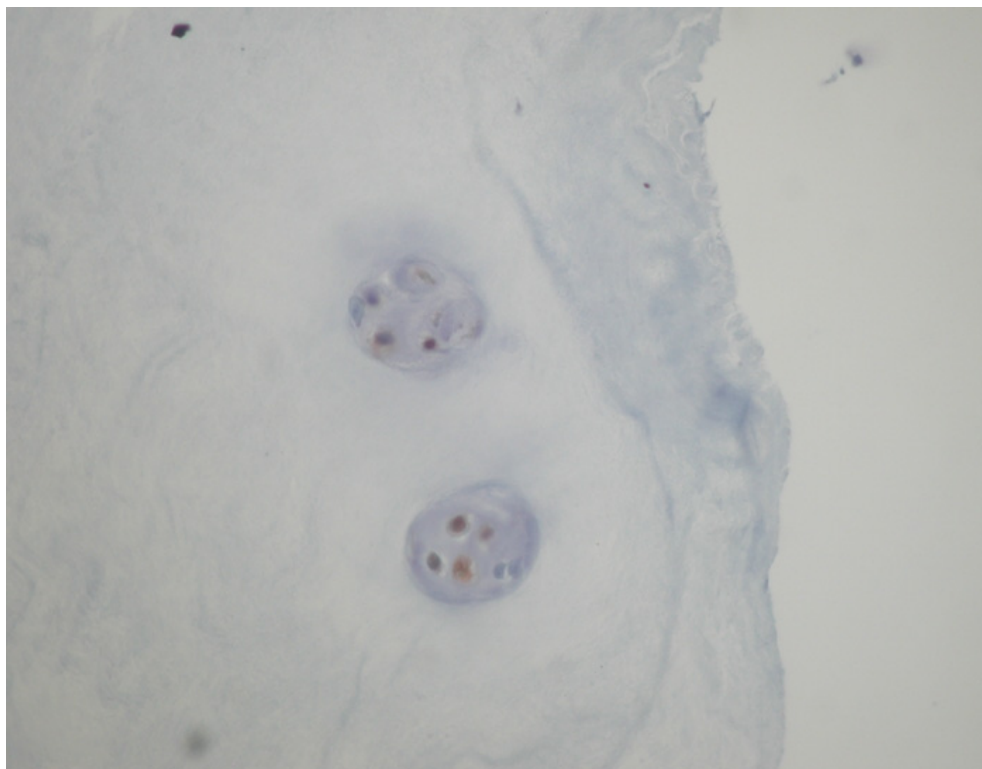
Στις εικόνες που ακολουθούν περιλαμβάνονται επιπρόσθετα ευρήματα της ανοσοϊστοχημικής μελέτης σχετικά με τις MMPs (εικ.23-29). Η θετική ανοσοχρώση αφορά στις καφέ-κόκκινες περιοχές σε κάθε εικόνα.



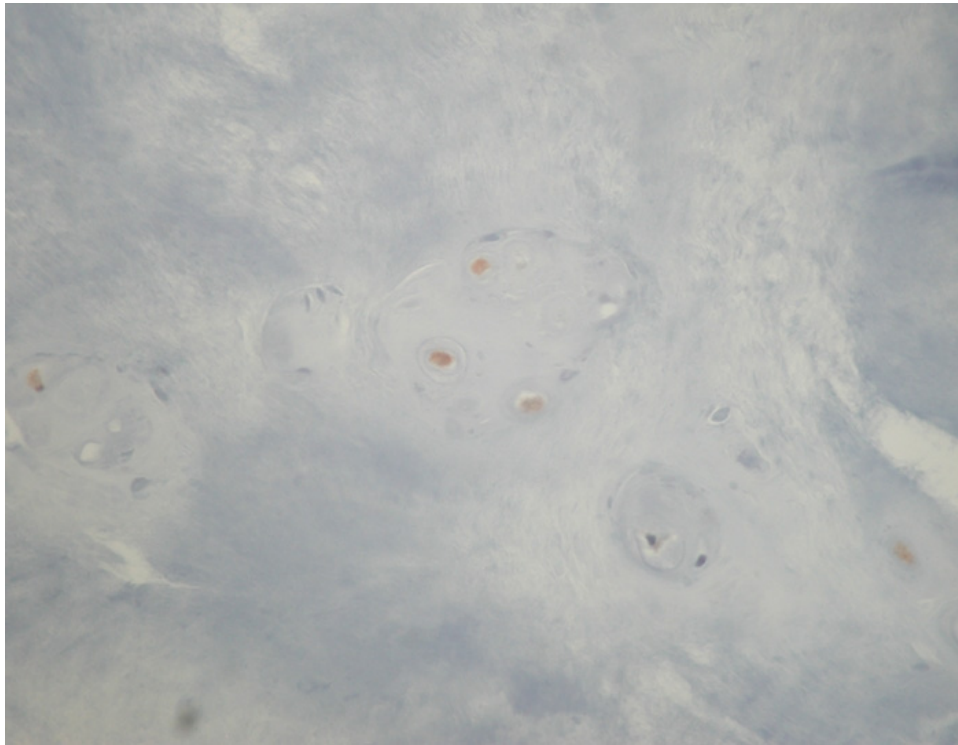
**Εικ.23. Πολύ ασθενής ανοσοχρώση για την MMP-9, κάτω από
10% των χονδροκυττάρων σε φωλεές. Δισκοκήλη πρώτου
βαθμού σε ασθενή 29 ετών.**



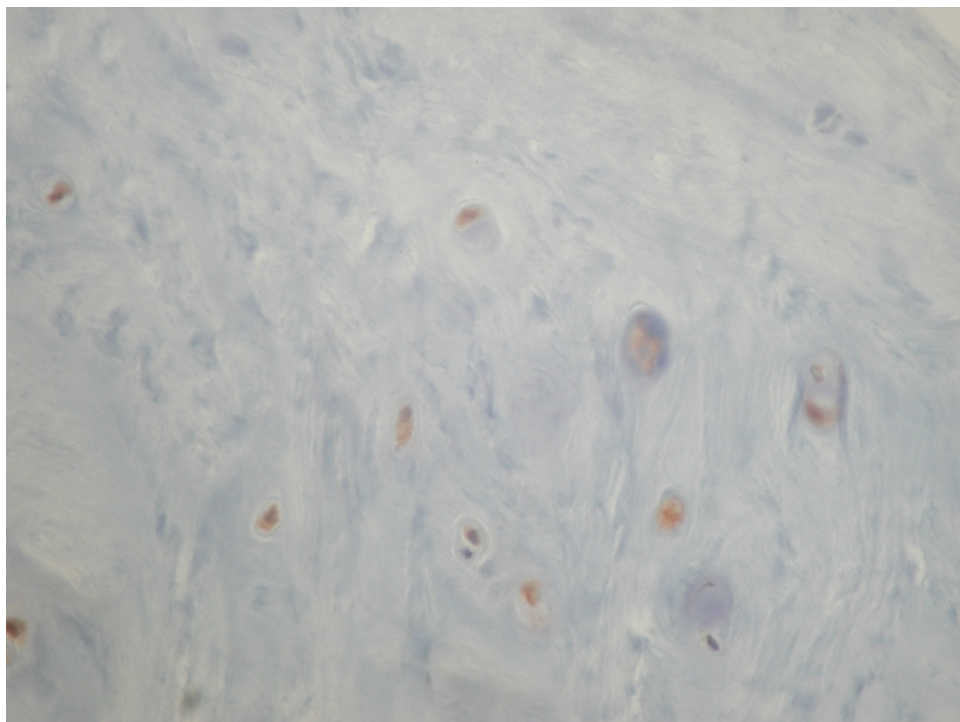
Εικ.24. Μέτριας έντασης ανοσοχρώση για την MMP-9 με 50% των χονδροκυττάρων σε φωλεές. Δισκοκήλη δευτέρου βαθμού σε ασθενή 53 ετών.



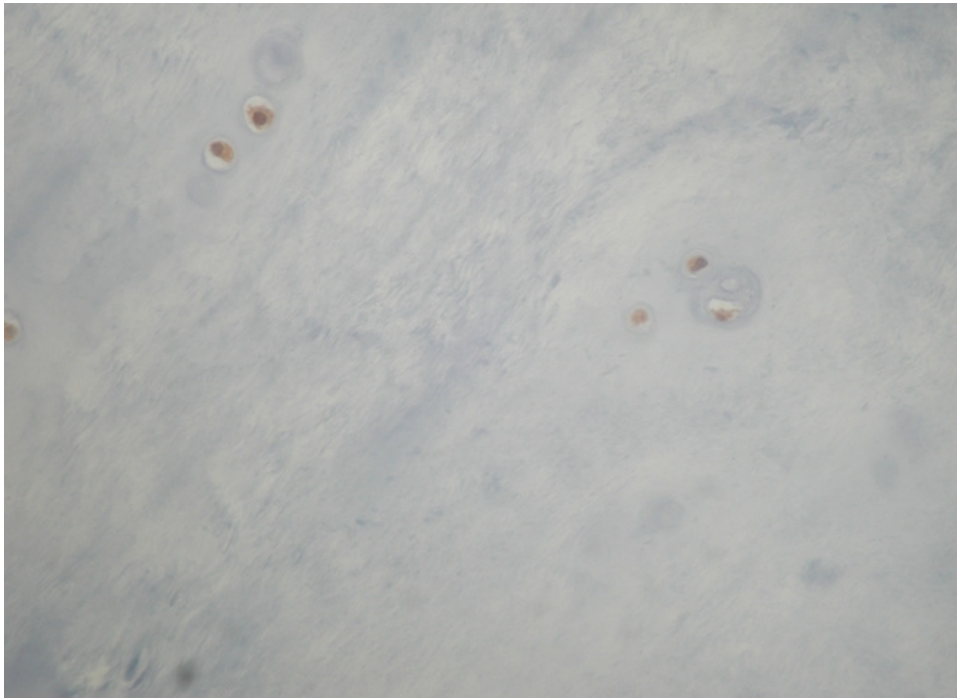
**Εικ.25. Έντονη ανοσοχρώση για την MMP-1 με 80% των
χονδροκυττάρων σε φωλεές. Δισκοκήλη τρίτου βαθμού σε ασθενή 28 ετών.**



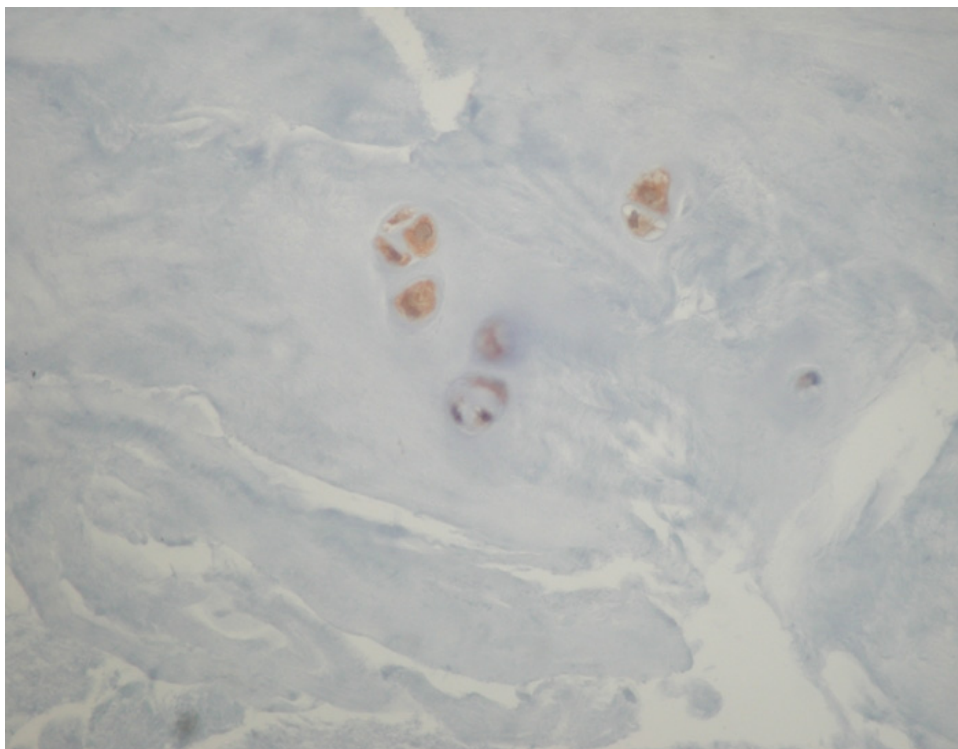
**Εικ.26. Έντονη ανοσοχρώση για την MMP-1 με >50% των χονδροκυττάρων σε
φωλεές. Δισκοκήλη τρίτου βαθμού σε ασθενή 67 ετών.**



Εικ.27. Έντονη ανοσοχρώση για την MMP-3 σε φωλεές χονδροκυττάρων και σε μεμονωμένα χονδροκύτταρα. Δισκοκήλη τρίτου βαθμού σε ασθενή 69 ετών.

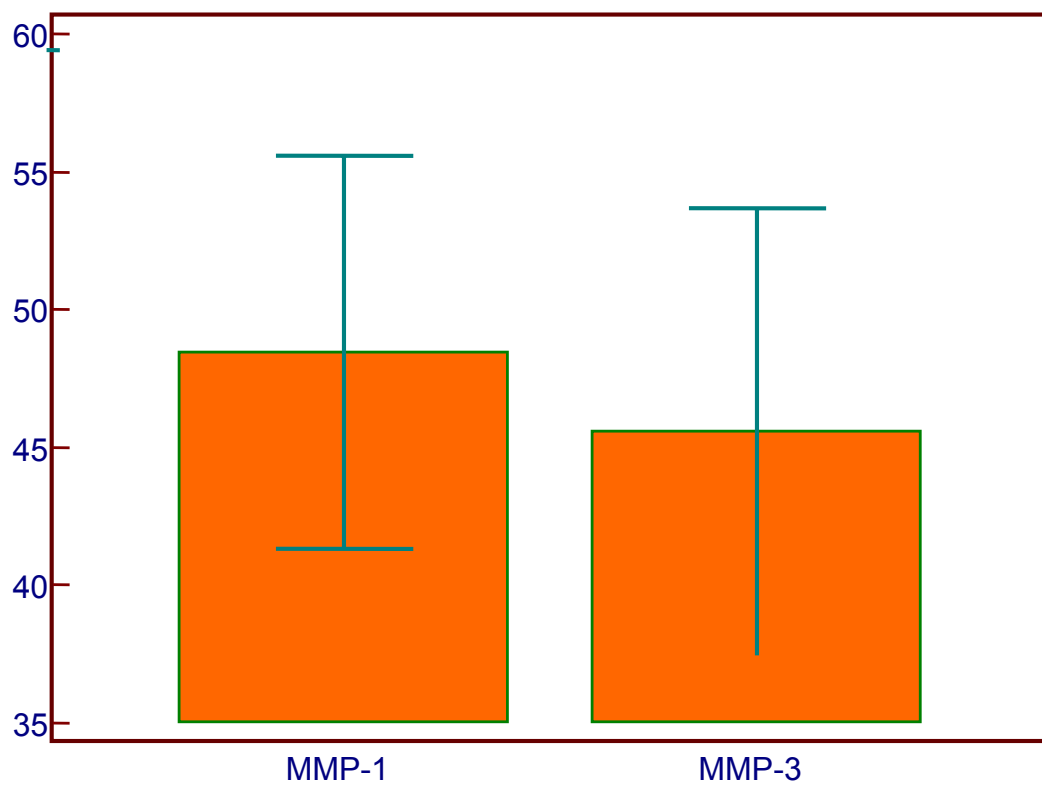


**Εικ.28. Έντονη ανοσοχρώση για την MMP-3 σε φωλεές
χονδροκυττάρων και σε μεμονωμένα χονδροκύτταρα.
Δισκοκήλη τρίτου βαθμού σε ασθενή 42 ετών.**

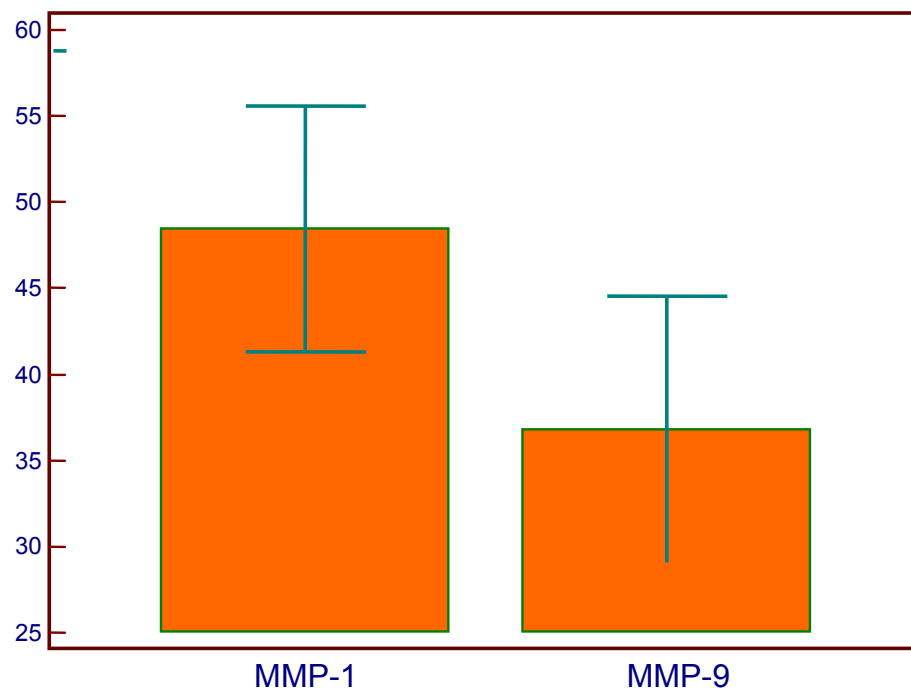


**Εικ.29. Έντονη ανοσοχρώση για την MMP-3. Δισκοκήλη
τρίτου βαθμού σε ασθενή 65 ετών.**

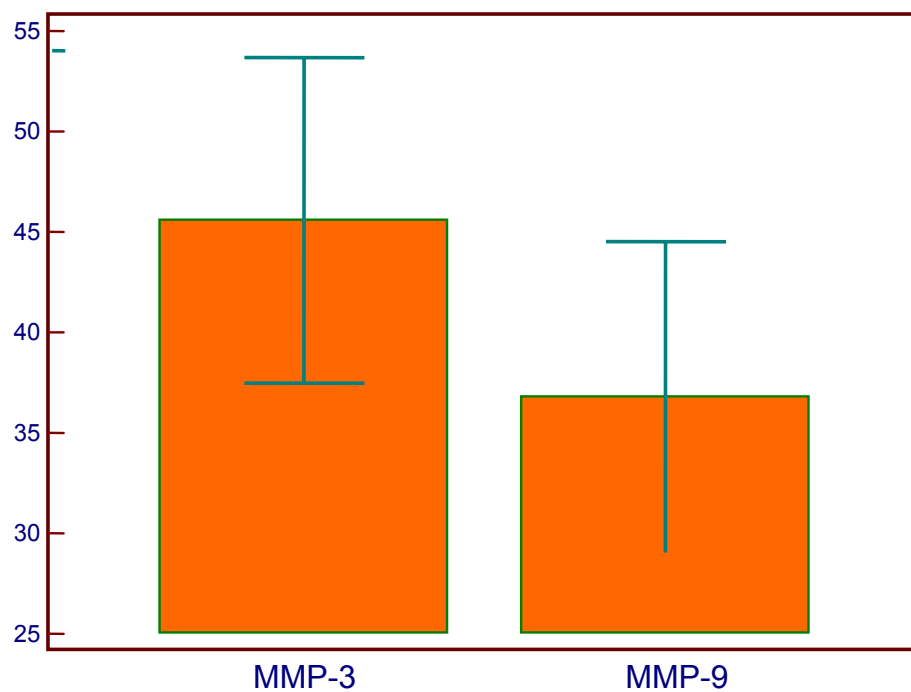
Αναλύοντας περαιτέρω την σχέση της έκφρασης των μεταλλοπρωτεϊνών μεταξύ τους διαπιστώθηκε ότι η MMP-1 και η MMP-3 σε όλες τις ηλικίες εκφράζονται σε μεγαλύτερο βαθμό σε σχέση με την MMP-9, με την MMP-3 να αποτελεί την κύρια και να ακολουθούν η MMP-1 και η MMP-9 ($p=0.08$ και $p=0.049$ για την MMP-1 και MMP-9 σε ηλικίες κάτω και άνω των 30 ετών αντίστοιχα και $p=0.03$ για την MMP-3 και MMP-9 σε όλες τις ηλικίες). Τα αποτελέσματα αυτά συγκεντρώνονται στα **γραφήματα 1-4**.



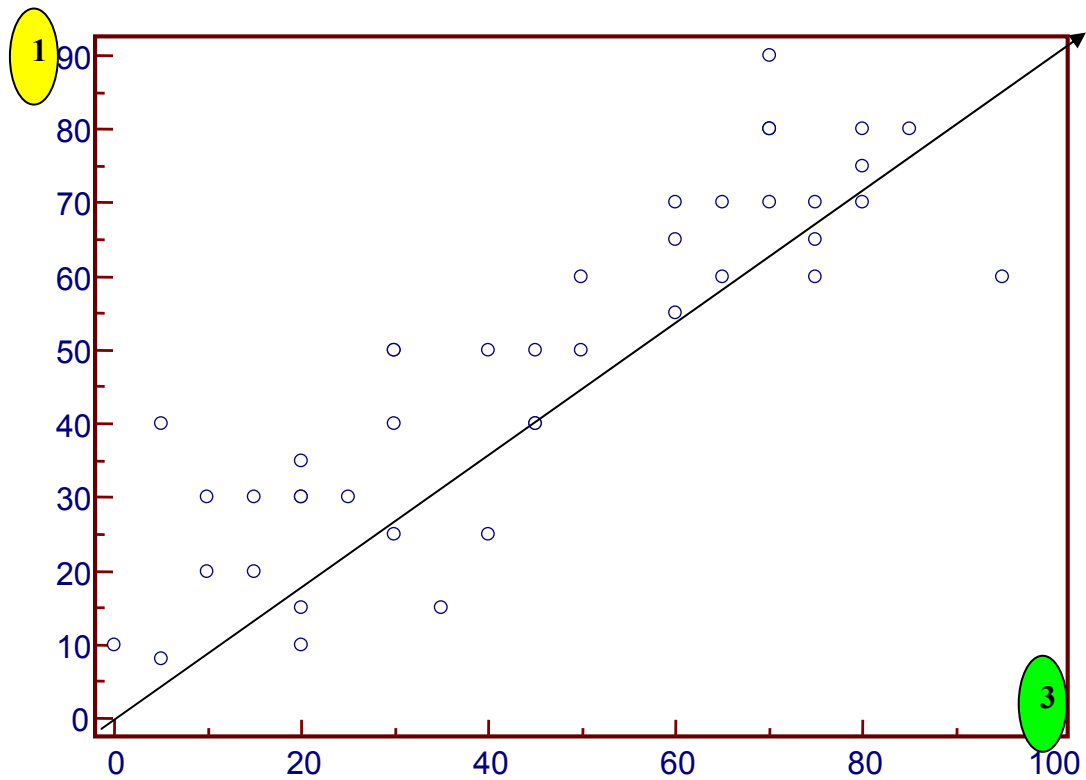
Γράφημα 1. Έκφραση και μέση απόκλιση των MMP-1 και MMP-3.



Γράφημα 2. Έκφραση και μέση απόκλιση των MMP-1 και MMP-9.



Γραφήμα 3. Έκφραση και μέση απόκλιση των MMP-3 και MMP-9.



Γράφημα 4. Συσχέτιση της ανοσοέκφρασης των MMP-1 και MMP-3 σε
όλες τις ηλικιακές ομάδες.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η πολυπαραγοντική διαδικασία του δισκικού εκφυλισμού και της εμφάνισης μιας οσφυϊκής δισκοκήλης καταδεικνύεται από την ποικιλία της επίπτωσης των θετικών απεικονιστικών ευρημάτων, που δεν ερμηνεύεται μόνο από την ηλικία ή άλλους ανεξάρτητους παράγοντες κινδύνου. Χαρακτηριστικό παράδειγμα η μείωση του ύψους του μεσοσπονδύλιου διαστήματος, η οποία εμφανίζει μεταξύ των μελετών επίπτωση από 3 έως 56%. Επίσης, ο Gordon και συν., ο οποίος χρησιμοποίησε μηχανικό μοντέλο για να μελετήσει σειρά ΜΔ από την κατώτερη ΘΜΣΣ ως το ιερό οστό στην εφαρμογή φορτίου, μπορεί να έθεσε με πειραματικά δεδομένα το ρόλο της μηχανικής καταπόνησης ως κύριο παράγοντα κινδύνου, ωστόσο απεδείχθη ότι αφορά σε όλες τις καθημερινές δραστηριότητες που εκτελούνται σε όρθια στάση και όχι μόνο σε αθλητικές δραστηριότητες και επαγγελματικές ασχολίες (41). Ο ΜΔ, τόσο ως φυσιολογικός ιστός όσο και ως εκφυλισμένη δομή, είναι πιο πολύπλοκη από την εντύπωση που πιθανόν υπάρχει και τις ενδεχόμενες κλινικές προσεγγίσεις, όπως διαπιστώνεται από τις εξής ενδιαφέρουσες παρατηρήσεις:

Α) Η οσφυϊκή δισκοκήλη εξαιρείται χειρουργικά με υψηλή πιθανότητα βελτίωσης των συμπτωμάτων ριζιτοπάθειας. Ωστόσο, η συντηρητική θεραπεία της νόσου μπορεί σε αρκετές περιπτώσεις να μειώσει τη σημειολογία χωρίς τις δομικές διαταραχές που προκαλούνται με μία επέμβαση.

Β) Προπτώσεις ΜΔ μπορεί να προκαλούν εντονότερο άλγος και μεγαλύτερη τάση στη σκληρά μήνιγγα σε σχέση με δισκικό υλικό που αποσπάται εντός του σποδυλικού σωλήνα.

Γ) Ασθενείς με οσφυαλγία και δυσχέρεια σε καθιστική θέση και με απεικονιστικά ελάχιστες αλλοιώσεις στον ΙΔ μπορεί να εμφανισθούν με παραισθησίες και οσφυοϊσχιαλγία.

Δ) Τοπική ή συστηματική έγχυση κορτικοστεροειδών έχει πρόσκαιρα μεν θετικά δε αποτελέσματα στον έλεγχο του άλγους.

Σειρά τέτοιων προβληματισμών οδήγησε την έρευνα προς τις ενδογενείς μεταβολές των ΜΔ. Η εμφάνιση δισκοκηλών στην ΟΜΣΣ και η σημειολογία που προκαλούν έχουν αποδοθεί την τελευταία εικοσαετία σε φλεγμονώδεις διαδικασίες πρωτεϊνολυτικής αρχής στην θεμέλια ουσία του ΜΔ.

Ξεκινώντας από το μακροσκοπικό επίπεδο, τα επίπεδα με συνηθέστερη εμφάνιση δισκοκήλης στην ΟΜΣΣ είναι τα Ο4-Ο5 και Ο5-Ι1 (110,111). Ο Urban και συν. θεωρεί ότι μεταξύ των ΜΔ της ΟΜΣΣ υφίστανται διαφορές στην ενυδάτωση και τη σύσταση, γεγονός που καθορίζει τη βιολογική συμπεριφορά και την πιθανότητα δισκοκήλης. Η μελέτη αφορούσε σε νεκροτομικό υλικό και διαπίστωσε ότι το επίπεδο Ο1-Ο2 δεχόταν την υψηλότερη πίεση (24). Στην δική μας μελέτη 37 από τους 43 ασθενείς (86%) παρουσίασαν δισκοκήλη στα επίπεδα Ο4-Ο5 και Ο5-Ι1, με τους 32 από τους 37 (86,5%) να παρουσιάζουν δεύτερου και τρίτου βαθμού δισκοκήλη.

Αν και ο εκφυλισμός σε ένα από αυτά τα δύο επίπεδα συσχετίζεται με την προσβολή του άλλου, δεν έχει καταγραφεί σημαντικός συσχετισμός της ηλικίας και της κλινικής εικόνας με την έκταση προσβολής των επιφυσιακών πλακών στα αντίστοιχα μεσοσπονδύλια διαστήματα (36,49). Από τα απεικονιστικά ευρήματα των ασθενών της μελέτης μας διαπιστώθηκε αλλοίωση των επιφυσιακών πλακών σε περισσότερα του ενός διαστήματα σε όλους τους ασθενείς πάνω από 60 ετών, χωρίς όμως το δισκογενές άλγος και η παρουσία δισκοκήλης να αφορούν σε περισσότερα του ενός επίπεδα.

Η διάκριση των οσφυϊκών δισκοκηλών βασίσθηκε στην απεικόνιση σε Μαγνητική Τομογραφία, σύμφωνα με τη μελέτη του Weishaupt και συν. (31). Η πρόπτωση υφίσταται όταν η μέγιστη απόσταση σε όλες τις διαστάσεις μεταξύ των άκρων του δισκικού υλικού πέρα από το δισκικό χώρο είναι μικρότερη από την απόσταση μεταξύ των άκρων της

βάσης αυτού στην ίδια διάσταση. Η έκθλιψη υφίσταται όταν σε έστω μία διάσταση κάθε απόσταση μεταξύ των άκρων του δισκικού υλικού πέρα από το δισκικό χώρο είναι μεγαλύτερη από την απόσταση μεταξύ των άκρων της βάσης στην ίδια διάσταση. Η απόσπαση προϋποθέτει απουσία συνέχειας τμήματος με την κεντρική μοίρα του ΜΔ.

Η φλεγμονώδης διαδικασία όσον αφορά στην εμφάνιση της ισχιαλγίας έχει υποστηριχθεί από διάφορες μελέτες (83,99,112,113,114,115,116). Ο Gronblad και συν. σε μελέτη 24 οσφυϊκών δισκοκηλών συμπέρανε την εμπλοκή φλεγμονωδών διαμεσολαβητών στη διαδικασία (47), ενώ την ίδια χρονιά η μελέτη της Spiliopoulou και συν. επιβεβαίωσε τη φλεγμονώδη αρχή του δισκογενούς άλγους μέσω καταγραφής μιας αύξησης στις ανοσοσφαιρίνες IgG και IgM σε μικρό όμως αριθμό (10) ασθενών (115). Οι φλεγμονώδεις διαμεσολαβητές που θεωρήθηκαν υπεύθυνοι για το δισκογενές άλγος ήταν, κατά Saal και συν., η φωσφολιπάση A₂ και σε άλλη μελέτη η προσταγλαδίνη 2, αφού η παρουσία της συνδέθηκε σημαντικά με θετικό σημείο Laségue (83). Από την άλλη πλευρά και κατά τρόπο ενδιαφέροντα, η παρουσία σε μεγάλο βαθμό φλεγμονωδών χαρακτηριστικών σε χειρουργημένους ασθενείς συσχετίστηκε με καλύτερη μετεγχειρητική έκβαση σε σύγκριση με δισκοκήλες που δεν παρουσίασαν έντονα σημεία φλεγμονής (99). Ο Moore και συν. δεν κατέγραψε συσχέτιση της αυξημένης παρουσίας νεοαγγείωσης ως χαρακτηριστικού φλεγμονής σε δισκικό υλικό δευτέρου βαθμού δισκοκηλών με διάρκεια, ένταση συμπτωμάτων και έκβαση των ασθενών (116). Στην μελέτη μας η προεγχειρητική σημειολογία δεν σχετίστηκε σημαντικά με τη μορφή της δισκοκήλης και την ένταση της ανοσοέκφρασης των μεταλλοπρωτεΐναιών, ενώ το ίδιο ίσχυσε και για την έκβαση των συγκεκριμένων ασθενών, που υπήρξε άριστη. Πιθανώς, σε έναν μεγαλύτερο αριθμό ασθενών να πλησιάζαμε τα αποτελέσματα του Woertgen και συν., που μελέτησε δείγματα δισκοκήλης 79 ασθενών και κατέγραψε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ ιστολογικά επιβεβαιωμένης φλεγμονής και έκβασης των ασθενών (99).

Ο Buckwalter και συν. κατηγοριοποίησε για πρώτη φορά τις εκφυλιστικές αλλαγές του ΜΔ ανάλογα με την ηλικία και σε εκτεταμένη μελέτη σε νεογνά, παιδιά, εφήβους, ενήλικες και ηλικιωμένους κατέληξε στους εξής υπεύθυνους μηχανισμούς: μειωμένη διατροφή, αύξηση νεκροβιωτικών κυττάρων, αλλοιώσεις σε επίπεδο DNA με αντανάκλαση στην λειτουργικότητα, αυξημένες διασυνδέσεις κολλαγόνου, αυξημένη συγκέντρωση μορίων αποδόμησης, δομική δυσλειτουργία (108). Ο Nerlich και συν., σε μια επίσης εκτεταμένη ανοσοϊστοχημική μελέτη οσφυϊκών ΜΔ για την παρουσία συσχέτισης με την ηλικία, παρουσίασε μια σχηματική εικόνα των γεγονότων που οδηγούν στις ιστολογικές αλλοιώσεις με την πάροδο της ηλικίας, καταδεικνύοντας την πολυπλοκότητα και την αλληλεπίδραση των μηχανισμών (43). Σε μία μελέτη αναφοράς ο Boos και συν. συγκέντρωσαν και ταξινόμησαν τις ιστοπαθολογικές αλλαγές των δειγμάτων ΜΔ σε τέσσερις κατηγορίες: βλεννώδης και κοκκιωματώδης εκφυλισμός της θεμέλιας ουσίας, σχισμές και ρήξεις σε περιφερικές και κεντρικές περιοχές, παρουσία χονδροκυττάρων σε σωρούς (75). Ο Boos και ο Nerlich, λοιπόν, αναζήτησαν την αιτία εμφάνισης δισκοκηλών στις μικρές ηλικίες, αρχή η οποία έπρεπε να ακολουθηθεί για την αναζήτηση των αρχικών σταδίων της δισκοκήλης. Οι προαναφερθείσες αλλαγές καταγράφηκαν ποσοτικά στην μελέτη μας με την μορφή αθροίσματος ιστολογικής εκφύλισης (HDS) και αναγνωρίστηκαν σε όλα τα δείγματα. Επιπλέον, το άθροισμα αυτό συσχετίστηκε σημαντικά με το βαθμό της δισκοκήλης. Στις περιπτώσεις της πρόπτωσης παρατηρήθηκαν ελάχιστες σχισμές και μονήρη χονδροκύτταρα, χωρίς σημαντικό εκφυλισμό της θεμέλιας ουσίας. Τα δείγματα με έκθλιψη και απόσπαση χαρακτηρίστηκαν από παρόμοιες αλλαγές, εκτός από την έντονη εμφάνιση ρωγμών σε περιπτώσεις αποσπασθέντος και ελεύθερου υλικού εντός του σπονδυλικού σωλήνα, όπως παρατηρήθηκε και από τους Ikeda και συν. και Doita και συν. σχετικά με την ένταση των φλεγμονωδών χαρακτηριστικών σε τμήματα ΠΠ δευτέρου και τρίτου βαθμού δισκοκηλών

(112,113,114). Ο Doita και συν. κατέληξε στο ότι δισκοκήλες δευτέρου και τρίτου βαθμού έχουν μονοπύρηννα που εκφράζουν φλεγμονώδεις διαμεσολαβητές οι οποίοι προάγουν τη νεοαγγείωση σε σύγκριση με δισκοκήλες πρώτου βαθμού (112). Η ιστολογική μελέτη του Moore και συν. παρατήρησε ότι όποια και αν ήταν η αιτία εμφάνισης της δισκοκήλης, το προπίπτον τμήμα περιελάμβανε πάντα υλικό από τον ΠΠ, γεγονός που επιβεβαιώνεται τόσο στη δική μας, όσο και σε άλλες μελέτες (116). Αν και μερικές μελέτες διαπίστωσαν ένα σημαντικό συσχετισμό μεταξύ του βαθμού εκφυλισμού με την ηλικία, στην παρούσα μελέτη καταγράφηκε μόνο μια τάση στα στοιχεία, συγκλίνοντας περισσότερο με την άποψη ότι η προσβολή της θεμέλιας ουσίας δε σχετίζεται με τη διάρκεια της εκφυλιστικής δισκικής νόσου (75,108).

Πρόσφατα, υπήρξαν διάφορες μελέτες σχετικά με το ρόλο πρωτεΐναιών της θεμέλιας ουσίας του ΜΔ και την πιθανή εμπλοκή φλεγμονωδών μορίων και κυττάρων στην εμφάνιση της δισκοκήλης (99,108,112,116,117,118,119,120,121). Ήδη από το 1993 ο Fujita και συν. κατέγραψε σε ΠΠ και επιφυσιακές πλάκες εκφυλισμένων δίσκων αυξημένη παρουσία πρωτεΐναιών, που χαρακτηρίζονταν από ζελατινολυτικές και ελαστινολυτικές ιδιότητες σε περιβάλλον ουδέτερου pH (122). Η ευαισθησία αυτών των ενζύμων σε ποικίλους συνθετικούς αναστολείς τον οδήγησε στο συμπέρασμα ότι ήταν ελαστάσες του ορού, όπως η ελαστάση κατά των λευκοκυττάρων. Σε πειραματική μελέτη ο Hasegawa και συν. κατέγραψε φλεγμονώδη αντίδραση εντός του ΠΠ με το ποσό λεμφοκυττάρων, μακρόφαγων και ινοβλαστών να είναι εμφανώς αυξημένο σε πειραματόζωα μεγαλύτερης ηλικίας (123). Άλλες μελέτες σε ανθρώπινα δείγματα διαπίστωσαν ότι τα μακρόφαγα είναι ο συνηθέστερος τύπος κυττάρων σε δισκοκήλη ανεξαρτήτως χρονικής διάρκειας συμπτωμάτων και εν γένει κλινικής εικόνας (47,114,124). Ο Ikeda και συν., σχετικά με την φαγοκυττάρωση των δισκοκηλών, παρατήρησε ότι σε 100 δείγματα ΜΔ ήταν αυξημένη σε δισκοκήλες δευτέρου και τρίτου βαθμού και κυρίως στον ΠΠ σε σχέση με

τον ΙΔ. Οι παράμετροι περιελάμβαναν διήθηση από κύτταρα, νεοαγγείωση και κοκκίωση (T-λεμφοκύτταρα, μακροφάγα), δηλαδή αντιστοιχούσαν σε φλεγμονώδη διαδικασία (114). Ο Kawagushi και συν. μελέτησε 31 δείγματα ασθενών που χειρουργήθηκαν για δισκοκήλες δευτέρου και τρίτου βαθμού καταλήγοντας επίσης στα ίδια συμπεράσματα (93). Ο Habtemariam και συν., σε μελέτη 44 ασθενών, δεν ανέδειξε συσχέτιση της παρουσίας μακροφάγων και Β και Τ- λεμφοκυττάρων με τη διάρκεια των συμπτωμάτων στην προεγχειρητική περίοδο, γεγονός που κατεγράφη και στη δική μας μελέτη όσον αφορά στο ιστολογικό άθροισμα εκφύλισης και στην έκφραση των MMPs (125). Ο Miller και συν. σε μια μελέτη 600 πτωματικών ΜΔ ηλικιών 0 έως 96 ετών κατέγραψε σημαντική συσχέτιση της αυξημένης εκφύλισης μόνο με το αρρεν φύλο, με την ηλικία άνω των 50 ετών και με τα επίπεδα Ο3-Ο4 και Ο4-Ο5, με όλους τους περιορισμούς μιας νεκροτομικής μελέτης (126). Επικουρικά, μελέτες σε πειραματόζωα αποκάλυψαν μια αύξηση στην έκφραση των ιντερλευκινών 1, 6, MMPs και του παράγοντα νέκρωσης όγκων (TNF-α) σε ΜΔ, με αντικρουόμενα επιχειρήματα για το ρόλο του τελευταίου σε δισκοκήλη (72,100,101).

Οι MMPs είναι οικογένεια ενζύμων με δυνατότητα αποδόμησης μέσω υδρόλυσης των σημαντικότερων δομικών συστατικών της θεμέλιας ουσίας του ΜΔ (81,95,127,128). Υπό φυσιολογικές συνθήκες βρίσκονται σε ισορροπία με τους αναστολείς τους (TIMPs), ώστε ο ΜΔ να διατηρεί τις λειτουργικές του ιδιότητες. Τα κύρια ένζυμα που ενέχονται στο δισκικό εκφυλισμό περιλαμβάνουν τις MMPs 1, 3, 9, 2, 7, 8, 13 και σε μικρότερο βαθμό την αγκρεκανάση (ανήκει στις αδαμαλυσίνες). Η μελέτη του Roberts και συν. αφορούσε σε σειρά 49 δείγματα ΜΔ από 46 ασθενείς με οσφυϊκή δισκοκήλη, ρήξεις ΙΔ, εκφυλιστική δισκική νόσο ή σπονδυλολίσθηση και έθεσε για πρώτη φορά την πρωϊμότερη εμφάνιση των MMPs 1, 2, 3, 9, 7, 8, 13 σε σχέση με άλλους παράγοντες υπεύθυνους για εμφάνιση δισκοκήλης (π.χ. αγκρεκανάση) και επίσης την ισορροπία που υπάρχει στην θεμέλια ουσία

του ΜΔ με τους TIMPs (81). Ο Nagase και συν. την ίδια περίοδο κατέληγε στην διαπίτωση ότι οι MMPs αποκάλυπταν προοδευτικά κρυπτικά χαρακτηριστικά και λειτουργίες των μακρομορίων της θεμέλιας ουσίας στους ΜΔ (94).

Η MMP-1 ανήκει στις κολλαγενάσες και είναι υπεύθυνη για την αποδόμηση των ινών κολλαγόνου τύπου I, II, III, IV και βιτρονεκτίνης (129). Παράγεται ως ζυμογόνο και ενεργοποιείται από την MMP-10, που δρά επίσης σε ίνες κολλαγόνου και νιδογόνο. Η στρωμελυσίνη-1 (MMP-3) παράγεται από κύτταρα όπως τα χονδροκύτταρα του ΜΔ και οι ινοβλάστες του αρθρικού θυλάκου. Παράγεται ως ζυμογόνο που λέγεται προστρωμελυσίνη. Πρωτεϊνάσες επιδρούν στο ζυμογόνο και δημιουργούν την ενεργή μορφή, που διασπά αγκρεκάνη, πρωτεογλυκάνες, λαμίνη-1 και ινωδονεκτίνη. Επίσης, η MMP-3 ενεργοποιεί περαιτέρω τις MMP-1, 7 και 13 (130,131). Ο Liu και συν. σε *in vitro* μελέτη παρουσίασε τη δυνατότητα των ΜΔ να παράγουν προστρωμελυσίνη η οποία ενεργοποιείται και αποδομούσε υλικό της θεμέλιας ουσίας (132).

Ο ρόλος των MMP-1 και 3 θεωρείται ότι δεν περιορίζεται στην αποδόμηση των συστατικών της θεμέλιας ουσίας του ΜΔ, αλλά εμπλέκεται επίσης σε διαδικασίες απορρόφησης της δισκοκήλης από μακροφάγα και παρουσιάζει επίσης αυξημένη έκφραση σε καταστάσεις αυξημένης υδροστατικής πίεσης στον ΜΔ (81,94,118,129,130,131,132,133). Σε *in vitro* πειραματική μελέτη ο Doita και συν. διαπίστωσε σημαντική συσχέτιση της παρουσίας των μακροφάγων με αυξημένη έκφραση των MMP-1 και 3 σε δίσκους με έκθλιψη, καταλήγοντας στη διαπίστωση ότι τα δύο ένζυμα ενέχονταν στην διαδικασία φαγοκυττάρωσης της δισκοκήλης (113). Τα ένζυμα MMP-1 και MMP-3 πιθανά διαδραματίζουν άμεσο ρόλο στην πρωτεϊνόλυση και έμμεσο στην νεοαγγείωση, η οποία οδηγεί πιθανά σε απορρόφηση της δισκοκήλης. Ο Matsui και συν. μελέτησε την έκφραση MMP-1 και MMP-3 σε σχέση με την παρουσία κοκκιωματώδους ιστού σε δισκοκήλες δευτέρου και τρίτου βαθμού σε δείγμα 21 ασθενών.

Τα ευρήματα συνέτειναν στην πιθανή σχέση MMPs και αποδόμησης της θεμέλιας ουσίας του ΜΔ (119). Ο Handa και συν. διαπίστωσαν ότι δισκικά κύτταρα παρήγαγαν *in vitro* αυξημένο ποσό πρωτεογλυκανών και MMP-3 μετά από αύξηση της πίεσης στον ΜΔ από 3 σε 30 Atm (ατμόσφαιρες). Η μελέτη αυτή βασίσθηκε στην ύπαρξη εντός των δισκικών κυττάρων ενός ρυθμιστικού δυναμικού μηχανισμού ως απάντηση σε μηχανική καταπόνηση. Πιο συγκεκριμένα, το ευαίσθητο στην πίεση χονδροκύτταρο ίσως αποτελεί το κλειδί για την αναζήτηση των γενεσιουργών γεγονότων της δισκικής εκφύλισης η οποία σχετίζεται με πρωτεϊνολυση της θεμέλιας ουσίας και περαιτέρω με απώλεια της ισχύος του ΙΔ και τελικά με εμφάνιση δισκοκήλης (118).

Η MMP-3 μελετήθηκε από τον Kanemoto και συν. σε 100 δείγματα από 80 ασθενείς που χειρουργήθηκαν για δισκοκήλη ΑΜΣΣ και ΟΜΣΣ. Η αυξημένη έκφραση συσχετίσθηκε σημαντικά με την αυξημένη εκφύλιση του ΜΔ βάσει απεικονιστικών ευρημάτων από τη Μαγνητική Τομογραφία (134). LeMaitre και συν. διαπίστωσαν ότι δεν υπήρξε θετική ανοσοαπάντηση της MMP-3 σε μη εκφυλισμένα δείγματα ΜΔ (98). Οι προαναφερθείσες παρατηρήσεις επιβεβαιώθηκαν ποσοτικά από τη μελέτη μας, όπου παρατηρήθηκε αυξημένη ανοσοαπάντηση στατιστικά σημαντική για τις MMP-1 και MMP-3 σε έκθλιψη και απόσπαση. Επιπλέον, η έκφραση MMP-1 και MMP-3 συσχετίσθηκε έντονα με τη δισκική εκφύλιση βάσει του HDS. Η εμπλοκή της MMP-3 στη διαδικασία του δισκικού εκφυλισμού μελετήθηκε επίσης από Nemoto και συν., σε μελέτη που έθεσε το ερώτημα της ακολουθίας της έκφρασης των MMPs σε σχέση με την ηλικία και τα γεγονότα του εκφυλισμού. Ο Nemoto και συν. διαπίστωσαν ότι η έκφραση MMP-3 στο ΜΔ πιθανόν να ενέχεται στην έναρξη του καταρράκτη εκφυλισμού της θεμέλιας ουσίας (135). Ο Kanemoto και συν. παρατήρησαν ότι η έκφραση της MMP-3 σχετιζόταν με το μέγεθος των οστεοφύτων, μια εκφυλιστική αλλαγή στη σπονδυλική μορφολογία με την πάροδο του χρόνου. Η αλλαγή στο ισοζύγιο της MMP-3 πιθανά ενέχεται στον

εκφυλισμό του οσφυϊκού ΜΔ με την ηλικία (134). Στην έρευνά μας η έκφραση MMP-1 και 3 μελετήθηκε σε σχέση με την ηλικία του ασθενούς. Σε ασθενείς κάτω των 30 ετών η έκφραση της MMP-3 ήταν σημαντικά ασθενέστερη από την έκφραση της MMP-1. Στις άλλες ηλικιακές ομάδες δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της έκφρασης MMP-1 και MMP-3. Συνεπώς, σε νεότερους ασθενείς η MMP-1 μπορεί να διαδραματίζει έναν πιο καθοριστικό ρόλο στην έναρξη του καταρράκτη αποδόμησης της θεμέλιας ουσίας του ΜΔ.

Η MMP-9 ανήκει στις ζελατινάσες και ενέχεται στη διαδικασία εκφυλισμού του χόνδρινου ιστού, σε αυτοάνοσα νοσήματα και φλεγμονώδεις καταστάσεις που αφορούν στο κεντρικό νευρικό σύστημα (136). Η δράση της περιλαμβάνει αποδόμηση ινών κολλαγόνου τύπου I, II, III, IV και βερσικάνης και προάγει την απελευθέρωση ιντερλευκίνης-8 (IL-8) για την χημειοταξία των ουδετεροφίλων, ενώ ενεργοποιείται από την καλλικρεΐνη-1 (94,119). Ο Crean και συν. μελέτησε τις MMP-2 και 9 σε ΜΔ ασθενών με εκφυλιστική δισκική νόσο και σε ασθενείς με σκολίωση. Η αυξημένη έκφραση στα σημεία του κυρτού αποδόθηκε στο αυξημένο μηχανικό φορτίο αυτού του τμήματος του ΜΔ (129). Ο Weiler και συν. μελέτησε την έκφραση των MMPs 1, 2, 3, 9 σε 30 δείγματα πτωματικών δίσκων με ηλικιακό φάσμα 0 έως 86 ετών, καταγράφοντας σημαντική συσχέτιση της έκφρασης των 1 και 3 σε μικρές ηλικίες, τη στιγμή που για την MMP-9 η έκφραση αφορούσε σε λίγα χονδροκύτταρα (109). Στην μελέτη μας η ανοσοέκφραση της MMP-9 αποτέλεσε επίσης μια ένδειξη εμπλοκής της στα παθογενετικά στάδια της δισκοκήλης. Η έκφρασή της ακολουθούσε την αντίστοιχη των άλλων δύο MMPs και παρουσίασε σημαντική συσχέτιση και με το HDS και με το βαθμό της δισκοκήλης. Το ιδιαίτερο γνώρισμα της MMP-9 αποτέλεσε η πιο εκτεταμένη και ασθενέστερη ανοσοχρώση κάθε δείγματος σε σχέση με τις άλλες δύο MMPs. Επίσης, η καταγραφή μιας συσχέτισης στην ανοσοέκφραση μεταξύ των MMP-1 και MMP-3 και λιγότερο με την

MMP-9 σε όλες τις ηλικίες θέτει νέα ερωτήματα για τη χρονική ακολουθία έκφρασης των ενζύμων στη διαδικασία εκφύλισης του ΜΔ και δημιουργίας της δισκοκήλης. Ο Freemont και συν. μελέτησε την έκφραση των MMPs 1, 3, 9 σε αρθρικό χόνδρο ασθενών με οστεοαρθρίτιδα και κατέγραψε μια διφασική έκφραση της 9, αυξημένη στα πρώιμα και μειωμένη στα όψιμα στάδια της νόσου (136). Στη μελέτη μας επιβεβαιώνουμε ότι μια παρόμοια ακολουθία πιθανά ισχύει με αιχμές, όμως, στις μικρές ηλικίες για την 1 και έπειτα για την 3 με σταθερά χαμηλή έκφραση για την 9. Η MMP-9 αφορά πιθανώς σε αλλαγές που αφορούν σε όλα τα τμήματα του ΠΠ και εμφανίζεται σε υψηλότερο βαθμό εκφυλισμού των δομών του ΜΔ και σε μεγαλύτερες ηλικίες, γεγονός που θέτει τελικά μια πιθανή ακολουθία της ανοσοέκφρασης των MMPs: 1, 3 και 9 ενεργοποιούνται με την συγκεκριμένη σειρά και προάγουν δομικές αλλαγές στη σύσταση του οσφυϊκού ΜΔ.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Η πολυπαραγοντική διαδικασία δισκικού εκφυλισμού μπορεί να ερμηνευθεί στα πλαίσια ανεπαρκούς διατροφής, μηχανικής ανισορροπίας σε παρατεταμένα φορτία, γενετικής προδιάθεσης και φλεγμονώδους αρχής. Η παρούσα μελέτη προσπαθεί να θέσει ποσοτικά χαρακτηριστικά σε ιστοπαθολογικά και ανοσοϊστοχημικά ευρήματα φλεγμονώδους αρχής σε οσφυϊκές δισκοκήλες, στην προσπάθεια να αποκαλυφθεί μια όχι ευρέως μελετημένη αιτιοπαθογένεια. Ενδεικτική η παρατήρηση των Urban και Roberts για την προόδο των μελετών σχετικά με την εμβιομηχανική και τις μεταβολικές ιδιότητες των ΜΔ: ως το 2003 οι δημοσιεύσεις για το ΜΔ αποτελούσαν το υποπενταπλάσιο των αντίστοιχων για τους νεφρούς και τους τένοντες (37).

Οι MMPs 1, 3 και 9 διαδραματίζουν πιθανά τον κυριότερο ρόλο στην πρωτεόλυση της θεμέλιας ουσίας του ΜΔ και εμμέσως στην αλληλεπίδραση μακροφάγων-χονδροκυττάρων δια της νεοαγγείωσης που προάγουν. Στην παρούσα μελέτη διαπιστώσαμε ότι η έκφραση των MMP-1 και MMP-3 συσχετίσθηκε με την αύξηση του βαθμού της δισκοκήλης, την αύξηση του βαθμού εκφυλισμού του ΜΔ βάσει HDS και με την ηλικία του ασθενούς. Από την άλλη πλευρά η έκφραση της MMP-9 ήταν καθολικότερη σε κάθε δείγμα αλλά λιγότερο έντονη. Παράλληλα, η εμπλοκή τριών MMPs από τρεις διαφορετικές υποκατηγορίες στις ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις του ΜΔ ανέδειξε τον πρωταρχικό ρόλο αυτής της κατηγορίας ενζύμων στην διαδικασία.

Ο εκφυλισμός του ΜΔ αποτελεί στόχο βιολογικών θεραπευτικών στρατηγικών στα πλαίσια της μοριακής βιολογίας, της γενετικής και της μελέτης σε κυτταρικό επίπεδο. Από το 1998 έως σήμερα, αναδείχθηκε ο ρόλος της γενετικής σε σχέση με το δισκικό εκφυλισμό. Οι γενετικές θεραπείες με αρχέγονα κύτταρα και επαναμεταμόσχευση κυττάρων ΠΠ, που έχουν καλλιεργηθεί κατάλληλα, έχουν μελετηθεί εκτεταμένα σε

πειραματόζωα. Το μεγάλο ερώτημα όσον αφορά στην προσπάθεια αποκατάστασης των ενδογενών βλαβών των ΜΔ είναι η προέλευση των κλινικά χρήσιμων κυττάρων που θα χρησιμοποιηθούν για αντικατάσταση σε εκφυλισμένους ΜΔ. Η καλλιέργεια αρχέγονων κυττάρων αποτελεί μια ελπιδοφόρα λύση, αν και η απουσία συγκεκριμένων δεικτών για αναγνώριση και διάκρισή τους στο ΜΔ αποτελεί το κυριότερο πρόβλημα. Ο Roughley και συν. πρότεινε βιολογική θεραπεία της δισκικής εκφύλισης μέσω παραγωγής υγιών κυττάρων ΠΠ in vitro και χειρουργική έγχυσή τους στο ΜΔ ή έγχυση υγιών κυττάρων σε ΜΔ in vivo για ανάπτυξή τους εντός του οργανισμού (82). Οι δύο τεχνικές θεωρήθηκαν ενδεδειγμένες οδοί επανόρθωσης με περιορισμούς όσον αφορά στην κάκωση που προκαλείται στον ΙΔ κατά την έγχυση και στη λειτουργικότητα των εγχυόμενων κυττάρων σε ένα ήδη επηρεασμένο δισκικό περιβάλλον. Στόχο της θεραπείας αποτέλεσε η αγκρεκάνη, η οποία θεωρήθηκε ως ουσιαστική για τη φυσιολογική λειτουργία και αναγκαία για την επιτυχή επανόρθωση με τεχνητό τρόπο.

Ο πολύπλοκος και ουσιαστικός ρόλος των MMPs αποτέλεσε και εξακολουθεί να αποτελεί πεδίο ερευνών, στην προσπάθεια να ανασταλεί η δράση τους εντός του ΜΔ (107,137,138,139,140,141,142,143,144). Αυξητικοί παράγοντες και αναστολείς πρωτεασών έχουν μελετηθεί in vitro. Σε πειραματόζωα εφήρμοσαν ενδοδισκική έγχυση οστεογενούς πρωτεΐνης-1, που ανήκει σε αυξητικούς παράγοντες και με δυνατότητα να επηρεάζει in vitro τη σύνθεση πρωτεογλυκανών και κολλαγόνου. Με απεικονιστική μέθοδο διαπιστώθηκε αύξηση κατά 15% του ύψους του ΜΔ και του ποσού των πρωτεογλυκανών. Οι αναστολείς των MMPs έχουν χρησιμοποιηθεί σε μελέτες ανάσχεσης της οστεοαρθρίτιδας και την τελευταία δεκαετία στη θεραπεία του καρκίνου (υδροξυαμικό οξύ, που αλληλεπιδρά με τον ψευδάργυρο του καταλυτικού κέντρου του ενζύμου). Ωστόσο, εξειδικευμένοι αναστολείς για MMPs είναι δύσκολο να συντεθούν, λόγω των ομοιοτήτων στη δομή τους.

Η μελέτη της επιμέρους δράσης των MMPs στοχεύει συνεπώς στην πληρέστερη κατανόηση της εμπλοκής τους και των διαφορών τους, κατεύθυνση στην οποία η παρούσα διατριβή μπορεί να προσφέρει, μέσω της ποσοτικής ανάλυσης και συσχέτισης στην έκφραση των MMPs και στις ιστολογικές αλλοιώσεις των ΜΔ. Η μελέτη βοηθά περαιτέρω στο σχεδιασμό φαρμακευτικών θεραπειών για αναστολή του δισκικού εκφυλισμού, επανορθωτικών-ανασταλτικών θεραπειών δισκοκηλών και στην παρέμβαση σε γονιδιακό επίπεδο. Η κλινική σημασία αφορά σε μια προσπάθεια να παρέμβουμε όσο το δυνατόν πρώιμα στην διαδικασία δημιουργίας των οσφυϊκών δισκοκηλών.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η ΣΣ ως σύνολο εμφανίζει την ικανότητα να εκτελεί ένα ευρύ φάσμα κινήσεων, δυνατότητα που οφείλεται κυρίως στην δομή, την κατασκευή και τις εμβιομηχανικές ιδιότητες που διαθέτουν οι μεσοσπονδύλιοι δίσκοι (ΜΔ). Η ΟΜΣΣ υποβαστάζει το βάρος της κεφαλής, του κορμού και των άνω άκρων, οπότε η μείζονα φόρτιση καταγράφεται κυρίως στην συγκεκριμένη περιοχή. Η οσφυαλγία αποτελεί την δεύτερη πιο συχνή αιτία αναζήτησης ιατρικής βοήθειας και την πρώτη αιτία αποχής από την εργασία σε ηλικίες κάτω των 45 ετών. Οι δομικές διαταραχές που προκαλούν οσφυαλγία με/ή ισχιαλγία αφορούν κυρίως στους ΜΔ και περαιτέρω στην εμφάνιση δισκοκήλης.

Οι αλλαγές στο ενδοδισκικό περιβάλλον και στον περιδισκικό χώρο αρχικά οδηγούν σε συμμετρική προβολή του ΜΔ και στην συνέχεια η εντοπισμένη μετακίνηση δισκικού υλικού πέρα από τα όρια του δισκικού χώρου δημιουργεί την δισκοκήλη. Η Μαγνητική Τομογραφία επέτρεψε την διάκριση των οσφυϊκών δισκοκηλών σε 3 βασικές μορφές: πρόπτωση, έκθλιψη και απόσπαση.

Ο ΜΔ αποτελείται από δύο τμήματα, εξωτερικά τον ινώδη δακτύλιο (ΙΔ), με έσω και έξω τμήματα, και εσωτερικά τον πηκτοειδή πυρήνα (ΠΠ). Τα έσω και έξω τμήματα του ΙΔ συνδέονται με τις επιφυσιακές πλάκες και το σπονδυλικό σώμα αντίστοιχα. Νερό, πρωτεογλυκάνες και κολλαγόνο είναι κοινά συστατικά σε ΙΔ και ΠΠ αλλά σε διαφορετική αναλογία, άμεσα σχετιζόμενη με την λειτουργία κάθε τμήματος.

Η εμφάνιση μιας οσφυϊκής δισκοκήλης αποτελεί ένα συνδυασμό μιας σειράς εμβιομηχανικών αλλαγών και μιας φλεγμονώδους αντίδρασης με δυσχέρεια διάκρισης αιτίου και συνέπειας μεταξύ των. Επηρεάζεται από μηχανικές φορτίσεις, περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως το κάπνισμα, γενετικούς παράγοντες, αυτοάνοσους μηχανισμούς και αλλαγές στην κυτταρική βιολογία του ΜΔ.

Πρωτεογλυκάνες και ίνες κολλαγόνου στην θεμέλια ουσία του ΜΔ αποτελούν το υπόστρωμα για τις μεταλλοπρωτεϊνάσες (MMPs). Ο στόχος της παρούσας μελέτης είναι να προσδιορίσει τον βαθμό συσχέτισης των δομικών αλλαγών της θεμέλιας ουσίας του ΜΔ με την ηλικία και την μορφή της δισκοκήλης σε ασθενείς που, βάσει κλινικών και απεικονιστικών ευρημάτων, χειρουργήθηκαν για οσφυϊκή δισκοκήλη. Οι δομικές αυτές αλλαγές περιλαμβάνουν την μορφολογία του ΙΔ και των χονδροκυττάρων, τα είδη εκφύλισης της θεμέλιας ουσίας και την ανοσοέκφραση των μεταλλοπρωτεϊνών.

Για τον σκοπό της παρούσας μελέτης μελετήθηκαν τα δείγματα δισκοκήλης 43 ασθενών (28 άνδρες και 15 γυναίκες, μ.η.47 έτη, εύρος 21-76). Η διάγνωση σε όλους ήταν οσφυϊκή δισκοκήλη και η προεγχειρητική σημειολογία περιελάμβανε άλγος χωρίς πάρεση ρίζας ή ορθοκυστικές διαταραχές. Η χειρουργική θεραπεία επελέγη βάσει της κλινικής εικόνας, των ευρημάτων από την μαγνητική τομογραφία και της απόφασης του ασθενούς. Οι προσπελάσεις περιελάμβαναν μικροδισκεκτομή και πεταλεκτομία. Η κήλη του ΜΔ αφορούσε στα εξής διαστήματα: Ο1-Ο2 σε 2 ασθενείς, Ο2-Ο3 σε 2, Ο3-Ο4 σε 2, Ο4-Ο5 σε 14 και Ο5-Ι1 σε 23. Ακολούθησε κατηγοριοποίηση των μορφολογικών αλλαγών και ανοσοϊστοχημικός έλεγχος για κάθε παρασκεύασμα δισκοκήλης. Το σύστημα βαθμολόγησης βασίστηκε σε 4 παραμέτρους και μελετήθηκαν οι MMPs 1, 3, 9.

Στην παρούσα μελέτη διαπιστώσαμε ότι όλα τα δείγματα παρουσίασαν εκφυλιστικές αλλοιώσεις, που συσχετίστηκαν σημαντικά με τον βαθμό της δισκοκήλης και λιγότερο με την ηλικία. Η έκφραση των MMP-1 και MMP-3 συσχετίστηκε με την αύξηση του βαθμού της δισκοκήλης, την αύξηση του βαθμού εκφυλισμού του ΜΔ βάσει HDS και με την ηλικία του ασθενούς. Από την άλλη πλευρά η έκφραση της MMP-9 ήταν καθολικότερη σε κάθε δείγμα αλλά λιγότερο έντονη. Επίσης, η καταγραφή μιας συσχέτισης στην ανοσοέκφραση μεταξύ των MMP-1 και MMP-3 και λιγότερο με την MMP-9 σε όλες τις

ηλικίες θέτει νέα ερωτήματα για την χρονική ακολουθία έκφρασης των ενζύμων στην διαδικασία εκφύλισης και δημιουργίας της δισκοκήλης.

Συμπερασματικά, η εμπλοκή τριών MMPs από τρεις διαφορετικές υποκατηγορίες στις ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις του ΜΔ αναδεικνύει τον πρωταρχικό ρόλο αυτής της κατηγορίας ενζύμων στην διαδικασία. Οι παρατηρήσεις αυτές όσον αφορά στην φλεγμονώδη ερμηνεία της δημιουργίας μιας δισκοκήλης συνιστούν μια σημαντική κατεύθυνση στην αναζήτηση των αρχικών σταδίων αυτής σε διάφορες ηλικίες.

ABSTRACT

Histopathological study of matrix alterations in surgical disc specimens of patients with lumbar disc herniation

Zigouris Andreas

Objective

Low back pain is usually associated with abnormalities in the intervertebral discs of lumbar region, which is under continuous pressure and supports the weight of the entire body. Degeneration of the lumbar disc, biochemical changes and continuous loading lead to disc herniation, that appears on radiological investigation as protrusion, extrusion or sequestration.

The imbalance in production and loss of proteoglycans is a significant alteration in the matrix of lumbar disc. The matrix molecules are disorganized due to enzymatic activity, leading to break down and loss of disc height and elasticity. Among these enzymes, matrix metalloproteinases (MMPs) have been identified in higher levels in the majority of degenerated discs and have been considered to be a possible initial event in disc alterations.

In the present study we set out to investigate the expression of MMP-1, MMP-3 and MMP-9 and the histological alterations of intervertebral discs in patient's operated on for lumbar disc herniation.

Material and Methods

For the purpose of the study 43 lumbar disc specimens were excised during surgery from 43 individuals, 28 males and 15 females (mean age 47 years old, range 21-76) with the diagnosis of lumbar disc herniation. Surgery was performed based on clinical signs, physical examination findings, MRI scan and patient's decision. All patients suffered from low back pain and radiculopathy. The grade of herniation was categorized as protrusion (grade 1), extrusion (grade 2) and sequestration (grade 3), based on magnetic resonance imaging findings. The discs were originated from lumbar spine and specifically: 2 from (L1-L2), 2 from (L2-L3), 2 from (L3-L4), 14 from (L4-L5) and 23 from (L5-S1).

Histologic Evaluation

Histologic evaluation was performed on haematoxylin-eosin stained slides, using slightly modified previously reported grading systems. Briefly, the histologic changes were assessed separately on nucleus pulposus and annulus fibrosus, and a mean score was finally assigned. The grading system is based on four parameters, which represent distinct histologically recognizable alterations, i.e. chondrocyte proliferation/clusters (0=no proliferation, 1=increased cell density/connection of two chondrocytes, 2=small-medium size clones, 3=large size clones); tears and clefts (0=absent, 1=rarely present, 2=present in intermediate amounts, 3=abundantly present); granular changes (0=absent, 1=rarely present, 2=present in intermediate amounts, 3=abundantly present); and mucous degeneration (0=absent, 1=rarely present, 2=present in intermediate amounts, 3=abundantly present). The sum of the four parameters' score was designated as histologic degeneration score (max=12). The histologic evaluation was performed separately by two

pathologists, without knowledge of the clinical data. When disagreement arose, the slides were viewed in conference and a consensus was reached.

Immunohistochemistry

Immunostaining was performed on formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections using the EnVision System and the antibodies: MMP-1, MMP-3 and MMP-9. Briefly, 4 µm-thick tissue sections were deparaffinized in xylene; rehydrated through graded concentrations of alcohol and heated in a microwave oven for 2 cycles of 15 minute each at 300W, in citrate buffer, for antigen retrieval. Endogenous peroxidase activity was blocked with H₂O₂ solution in methanol (0.01M), for 30 minutes. After washing with PBS for 5 minutes, the primary antibodies MMP-1, MMP-3 and MMP-9 were applied for incubation (30 minutes at room temperature). Then the slides were washed for 10 minutes with PBS and were visualized with the En Vision system using diaminobezidine tetrahydrochloride as a chromogen. Finally, all sections were counterstained with hematoxylin. As a negative control, the first antibody was substituted with normal mouse immunoglobulin of the same class. For statistical purposes the immunostaining was evaluated semiquantitatively, based on previous report, as follows: twenty high power fields were randomly selected from nucleus pulposus and twenty from annulus fibrosus, and the proportion of stained chondrocytes in relation to the total number of chondrocytes present in the field was calculated. A mean percentage of MMP-1, MMP-3 and MMP-9 were finally assigned in each case.

Results

Histologic Changes

Forty-three disc specimens were obtained from 43 patients operated for lumbar disc herniation and showed degenerative changes. Seven patients (7/43, 16.3%) had protrusion, sixteen (16/43, 37.2%) extrusion and twenty (20/43, 46.5%) sequestration. Patients were categorized in three age groups: below 30, between 30 and 60 and above 60 years old. The histologic degeneration score was characterized as low (0-4), moderate (5-8) and high (9-12).

There was no statistical significant difference of the degeneration score between the age groups (<30 years to 30-60 $p=0.07$, <30 to >60 $p=0.76$, 30-60 to >60 $p=0.7$). Furthermore, it was apparent that degenerative changes, estimated semiquantitatively as described above, were more pronounced with increasing grade of herniation ($p<0.0001$).

Immunohistochemical Expression of MMP-1, MMP-3 and MMP-9

In general, chondrocytes with cytoplasmic expression of MMP-1, MMP-3 and MMP-9 were identified in all samples, both in nucleus pulposus and annulus fibrosus. In the age group <30 years of age there was a significant correlation between MMP-1 expression and both degenerative score and herniation grade ($p=0.032$, $p=0.004$ respectively). There was also a significant correlation between MMP-3 expression and both degenerative score and herniation grade ($p=0.007$, $p=0.001$ respectively). For the age group 30-60 years of age there was no significant difference between MMP-1 expression and degenerative score ($p=0.078$) but the correlation between MMP-1 expression and grade of herniation was significant ($p=0.0006$). There was a significant correlation between MMP-3 expression and both degenerative score and herniation grade ($p=0.033$, $p=0.0002$).

respectively). Regarding the patient group over 60 years of age there was a significant correlation between MMP-1 expression and both degenerative score and herniation grade ($p=0.036$, $p=0.015$ respectively). There was also a significant correlation between MMP-3 expression and both degenerative score and herniation grade ($p=0.027$, $p=0.014$ respectively). There was a statistical significant lower expression of both MMP1 and MMP3 in the age group <30 years of age compared to the other age groups ($p<0.0001$ in both cases). No significant correlation was found in MMP-1 and MMP-3 expression between the 30-60 and over 60 years of age groups ($p=0.099$, $p=0.22$ respectively). Interestingly, in age groups older than 30 years there was no statistical significant difference between the expression of MMP-1 and MMP-3, whereas in patients younger than 30 years of age the expression of MMP-3 was significant lower than the expression of MMP-1 ($p=0.038$). The expression of MMP-9 was significant lower than the expression of MMP-3 and in smaller percentage of chondrocytes. In comparison with the MMP-1 and 3 there was no significant differences between age groups and it was not recognized pronounced expression near clefts and degenerative changes. There was also a significant correlation between MMP-9 expression and the grade of herniation in the age group <30 years of age compared to the other age groups ($p=0.0037$). No significant correlation was found for the groups 30-60 and over 60 years of age ($p=0.13$, $p=0.7$ respectively). There was also a significant correlation between MMP-9 expression and herniation degenerative score in all age groups ($p=0.0065$).

Conclusion

MMPs 1, 3 and 9 are involved in the pathogenesis of lumbar disc degeneration and herniation. In the present study we found that the expression of MMP-1 and MMP-3 depended on grade of herniation, degree of disc degeneration and patient's age. The expression of MMP-9 had a greater extent in every specimen but it was significantly lower. According to degenerative changes of lumbar disc with age and the intercorrelation of the above mentioned MMPs, may have some other clues about the time continuation of matrix alterations, mainly responsible for lumbar disc herniation. There is a growing body of research pertaining to the use of gene therapy as an adjunct or alternative to the current treatment options for intervertebral disc herniation. Future studies on MMPs, to better decipher each MMP's features, may hold promise for the development of targeted therapeutic interventions for low back pain.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1) Netter FH: Nervous system, Anatomy and Physiology. **The Ciba Collection of Medical Illustrations**. 1986; vol.1 (part I):17-18.
- 2) Gray's Anatomy. **Churchill Livingstone**. 1995; 526-528.
- 3) Sobotta: Άτλαντας της Ανατομικής του Ανθρώπου. **Εκδόσεις Παρισιάνου**. 1995; τόμος 2: 24-25.
- 4) Σάββας Α.Π.: Επίτομη Ανατομική του Ανθρώπου. **Εκδόσεις Κυριακίδη**. 1989; τόμος 2: 23-24.
- 5) Κωτούλας Ο.Β.: Ιστολογία. **Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων**. 1995; 153-155.
- 6) Lindsay KW, Bone I., Callander R.: Νευρολογία και Νευροχειρουργική Εικονογραφημένη. **Εκδόσεις Παρισιάνου**. 1991; 389-398.
- 7) Deyo RA, Weinstein JN: Low back pain. **N Engl J Med**. 2001; 344:363-370.
- 8) Cypress BK: Characteristics of physician visits for back symptoms: A national perspective. **Am J Pub** 1983; 73: 389-95.
- 9) Cunningham LS, Kelsey JL: Epidemiology of musculoskeletal impairments and associated disability. **Am J Public Health**. 1984; 74: 574-9.
- 10) Borenstein DG: Epidemiology, etiology, diagnostic evaluation, and treatment of low back pain. **Curr Opin Rheumatol**. 2001; 13:128-134.
- 11) Frymoyer JW: Lumbar disc disease: Epidemiology. **Instr Course Lect**. 1992; 41:217-223.
- 12) Andersson GB: Epidemiological features of chronic low-back pain. **Lancet** 1999; 354:581-5.

- 13) Videman T, Battié MC: A critical review of the epidemiology of idiopathic low back pain. **Low back pain: a scientific and clinical overview. Rosemont: AAOS. 1996; 317-32.**
- 14) Greenberg MS: Handbook of Neurosurgery. **Thieme. 2006; 302-304.**
- 15) Τσιτσόπουλος ΦΔ.: Νευροχειρουργική κριτική και πρακτική προσέγγιση. **Εκδόσεις Παρισιάνου. 2005; 166-168.**
- 16) Φόρογλου Γ.Π.: Νευροχειρουργική. **Εκδόσεις Παρατηρητής. 1989; 216-224.**
- 17) Komori H, Shinomiya K, Nakai O et al.: The natural history of herniated nucleus pulposus with radiculopathy. **Spine 1996 Jan 15; 21(2):225-9.**
- 18) Wilder DG, Pope MH, Frymoyer JW: The biomechanics of lumbar disc herniation and the effect of overload and instability. **J Spinal Disord. 1988; 1(1):16-32.**
- 19) Thompson JP, Pearce RH, Schechter MT et al. Preliminary evaluation of a scheme for grading the gross morphology of the human intervertebral disc. **Spine 1990; 15:411-5.**
- 20) Freemont AJ, Peacock TE, Goupille P et al.: Nerve ingrowth into diseased intervertebral disc in chronic back pain. **Lancet. 2007; 350: 178-181.**
- 21) Adams MA, McNally DS, Dolan P: 'Stress' distributions inside intervertebral discs. The effects of age and degeneration. **J Bone Joint Surg Br. 1999; 78:965-972.**
- 22) Antoniou J, Goudsouzian NM, Heathfield TF et al: The human lumbar endplate. Evidence of changes in biosynthesis and denaturation of the extracellular matrix with growth, maturation, aging, and degeneration. **Spine 1996; 21:1153-1161.**
- 23) Antoniou J, Steffen T, Nelson F et al: The human lumbar intervertebral disc: Evidence for changes in the biosynthesis and denaturation of the extracellular matrix with growth, maturation, aging, and degeneration. **J Clin Invest. 1996; 98:996-1003.**
- 24) Urban JPG, McMullin JF: Swelling pressure of the lumbar intervertebral discs: influence of age, spinal level, composition, and degeneration. **Spine. 1988; 13:179-187.**

- 25) Pearce RH, Grimmer BJ, Adams ME: Degeneration and the chemical composition of the human lumbar intervertebral disc. **J Orthop Res.** 1987; 5:198-205.
- 26) Fardon DF, Milette PC: Nomenclature and classification of lumbar disc pathology. Recommendations of the combined task forces of the NASS, the American society of Spine Radiology and the American society of Neuroradiology. **Spine.** 2001; 26 (5): 93-113.
- 27) Park JB, Lee JK, Park SJ, Riew KD: Hypertrophy of ligamentum flavum in lumbar spinal stenosis associated proteinase inhibitor concentration. **J Bone Joint Surg Am.** 2005 Dec; 87(12):2750-7.
- 28) Powell MC, Wilson M, Szypryt P et al.: Prevalence of lumbar disc degeneration observed by magnetic resonance in symptomless women. **Lancet.** 1986; 2: 1366-7.
- 29) Nissi MJ, Toyras J, Laasanen MS et al. : Proteoglycan and collagen sensitive MRI evaluation of normal and degenerated articular cartilage. **J Orthop Res** 2004; 22:557-64.
- 30) Pfirrmann CW, Metzdorf A, Zanetti M. et al. : Magnetic resonance classification of lumbar intervertebral disc degeneration. **Spine.** 2001; 26:1873-8.
- 31) Weishaupt D, Zanetti M, Hodler J et al.: MR imaging of the lumbar spine: Prevalence of intervertebral disk extrusion and sequestration, nerve root compression, end plate abnormalities and osteoarthritis of the facet joints in asymptomatic volunteers. **Radiology.** 1998; 209:661-666.
- 32) Battié MC, Videman T, Parent E.: Lumbar disc degeneration: Epidemiology and genetic influences. **Spine.** 2004; 29:2679-90.
- 33) Gruber HE, Norton HJ, Sun Y et al.: Crystal deposits in the human intervertebral disc: implications for the disc degeneration. **Spine.** 2007 Jul-Aug; 7(4):444-450.
- 34) Battié MC, Videman T, Levalahti E et al.: Heritability of low back pain and the role of disc degeneration. **Pain.** 2007; 131:272-280.

- 35) Melrose J, Roberts S, Smith S et al.: Increased nerve and blood vessel ingrowth associated with proteoglycan depletion in an ovine annular lesion model of experimental disc degeneration. **Spine**. 2002; 27:1278-85.
- 36) Kanayama M, Togawa D, Takahashi C et al.: Cross-sectional magnetic resonance imaging study of lumbar disc degeneration in 200 healthy individuals. **J Neurosurg Spine**. 2009; 11:501-507.
- 37) Urban JPG, Roberts S.: Degeneration of the intervertebral disc. **Arthritis Res Ther**. 2003; 5:120-130.
- 38) Buckwalter JA, Martin J.: Intervertebral disc degeneration and back pain. **Low back pain: a scientific and clinical overview. Rosemont: AAOS**. 1996; 607-23.
- 39) Goel VK. Biomechanics of disc herniation and related issues. **Low back pain: a scientific and clinical overview. Rosemont: AAOS**. 1996; 289-304.
- 40) Okawa A, Haro H, Takahashi M et al: Biochemical response of the intervertebral disc cells induced by an acute shear force in a rat tail model. **Spine**. 1997; 22:1085-91.
- 41) Gordon SJ, Yang KH, Mayer PJ et al.: Mechanism of disc rupture. **Spine**. 1991; 16:450-457.
- 42) Martin MD, Boxell CM, Malone DG: Pathophysiology of lumbar disc degeneration: A review of the literature. **Neurosurg Focus**. 2002; 13:E1.
- 43) Nerlich AG, Schleicher E., Boos N.: Immunohistochemical markers of age-related changes in the human lumbar intervertebral disc. **Spine**. 1997; 22:2781-2795.
- 44) Olmarker K., Blomquist J, Stromberg J et al.: Inflammotogenic properties of nucleus pulposus. **Spine**. 1995; 20:665-669.
- 45) Yamazaki S, Banes AJ, Weinhold PS et al.: Vibratory loading decreases extracellular matrix and matrix metalloproteinase gene expression in rabbit annulus cells. **Spine**. 2002 Nov-Dec; 2(6):415-20.

- 46) Katsuno R, Hasegawa T, Iwashina T et al.: Age-related effects of cocultured rat nucleus pulposus cells and macrophages on nitric oxide production and cytokine imbalance. **Spine**. 2008 Apr 15; 33(8): 845-9.
- 47) Grönblad M, Virri J, Tolonen J et al.: A controlled immunohistochemical study of inflammatory cells in disc herniation tissue. **Spine**. 1994 Dec 15; 19(24):2744-51.
- 48) Kurowski P, Kubo A: The relationship of degeneration of the intervertebral disc to mechanical loading conditions on lumbar vertebrae. **Spine**. 1986; 11:726-731.
- 49) Ishihara H, McNally DS, Urban JP et al.: Effects of hydrostatic pressure on matrix synthesis in different regions of the intervertebral disk. **J Appl Physiol**. 1996; 80:839-46.
- 50) Matsui H, Maeda A, Tuji H et al.: Risk indicators of low back pain among workers in Japan. Association of familial and physical factors with low back pain. **Spine**. 1997; 22:1242-1247.
- 51) Battié MC, Kaprio J.: The role of genetic influences in disc degeneration and herniation. **Low back pain: a scientific and clinical overview. Rosemont: AAOS**. 1996; 85-96.
- 52) Videman T, Sarna S, Battié MC et al. : The long-term effects of physical loading and exercise lifestyles on back-related symptoms, disability and spinal pathology among men. **Spine**. 1995; 20:699-709.
- 53) Battié MC, Videman T, Gill K et al.: 1991 Volvo Award in clinical sciences. Smoking and lumbar intervertebral disc degeneration: An MRI study of identical twins. **Spine**. 1991; 16:1015-21.
- 54) Varlotta GP, Brown MD, Kelsey JL et al.: Familial predisposition for herniation of a lumbar disc in patients who are less than twenty-one years old. **J Bone Joint Surg Am**. 1991; 73:124-128.

- 55) Matsui H, Terahata N, Tsuji H et al.: Familial predisposition and clustering for juvenile lumbar disc herniation. **Spine**. 1992; 17:1323-1328.
- 56) Battié MC, Videman T, Gibbons L et al.: 1995 Volvo Award in clinical sciences. Determinants of lumbar disc imaging findings in identical twins. **Spine**. 1995; 20:2601-2612.
- 57) Paassilta P, Lohiniva J, Goring HH et al.: Identification of a novel common genetic risk factor for lumbar disc disease. **JAMA**. 2001; 285:1843-9.
- 58) Kawaguchi Y, Osada R, Kanamori M et al.: Association between an aggrecan gene polymorphism and lumbar disc degeneration. **Spine**. 1999; 24:2456-60.
- 59) Takahashi M, Haro H, Wakabayashi Y et al.: The association of degeneration of the intervertebral disc with 5a/6a polymorphism in the promoter of the human matrix metalloproteinase-3 gene. **J Bone Joint Surg Br**. 2001; 83:491-5.
- 60) Hassett G, Hart DJ, Manek NJ et al. : Risk factors for progression of lumbar spine disc degeneration: The Chingford Study. **Arthritis Rheum**. 2003; 48:3112-7.
- 61) Sahlman J, Inkinen R, Hirvonen T et al.: Premature vertebral endplate ossification and mild disc degeneration in mice after inactivation of one allele belonging to the Col 2a1 gene for type II collagen. **Spine**. 2001; 26: 2558-2565.
- 62) Lyons G., Eisenstein SM, Sweet MB: Biochemical changes in intervertebral disc degeneration. **Biochim Biophys Acta**. 1981; 3:443-453.
- 63) Mimura M, Panjabi MM, Oxland TR et al.: Disc degeneration affects the multidirectional flexibility of the lumbar spine. **Spine**. 1994; 19:1371-1380.
- 64) Iencean SM: Lumbar intervertebral disc herniation following experimental intradiscal pressure increase. **Acta Neurochir**. 2000; 142:669-676.
- 65) Umehara S, Tadano S, Abumi K et al: Effects of degeneration on the elastic modulus distribution in the lumbar intervertebral disc. **Spine**. 1996; 21:811-820.

- 66) Fujita Y, Duncan NA, Lotz JC: Radial tensile properties of the lumbar annulus fibrosus are site and degeneration dependent. **J Orthop Res.** 1997; 15:814-819.
- 67) Lotz JC, Colliou OK, Chin JR et al: Compression-induced degeneration of the intervertebral disc: an in vivo mouse model and finite-element study. **Spine.** 1998; 23:2493-2506.
- 68) Kokubo Y, Uchida K, Kobayashi S et al: Herniated and spondylotic intervertebral discs of the human cervical spine: histological and immunohistological findings in 500 en bloc surgical samples. Laboratory investigation. **J Neurosurg Spine.** 2008; 9:285-295.
- 69) Oegema TR Jr, Johnson SL, Aguiar DJ et al: Fibronectin and its fragments increase with degeneration in the human intervertebral disc. **Spine.** 2000; 25:2742-2747.
- 70) Anderson DG, Li X, Tannoury T et al: A fibronectin fragment stimulates intervertebral disc degeneration in vivo. **Spine** 2003; 28:2338-45.
- 71) Blain EJ, Gilbert SJ, Wardale RJ et al: Up-regulation of matrix metalloproteinase expression and activation following cyclical compressive loading of articular cartilage in vitro. **Arch Biochem Biophys.** 2001; 396:49-55.
- 72) Takahashi H, Suguro T, Okazima Y et al: Inflammatory cytokines in the herniated disc of the lumbar spine. **Spine.** 1996; 21: 218-224.
- 73) Brisby H, Balague F, Schafer D et al: Glycosphingolipid antibodies in serum in patients with sciatica. **Spine.** 2002; 27:380-386.
- 74) Satoh K, Konno S, Nishiyama K et al: Presence and distribution of antigen-antibody complexes in the herniated nucleus pulposus. **Spine.** 1999; 24:1980-1984.
- 75) Boos N, Weissbach S, Rohrbach H et al: Classification of age-related changes in lumbar intervertebral discs. **Spine.** 2002; 27:2631-2644.
- 76) Adams MA, Bogduk N, Burton K et al.: The Biomechanics of back pain. **Churchill Livingstone.** 2002; 197-203.

- 77) Osti OL, Vernon-Roberts B, Moore R et al: Annular tears and disc degeneration in the lumbar spine. A post-mortem study of 135 discs. **J Bone Joint Surg Br.** 1992; 74:678-82.
- 78) Jensen MC, Brant-Zawadzki MN, Obuchowski N, et al. Magnetic resonance imaging of the lumbar spine in people without back pain. **N Engl Med.** 1994; 331:69-73.
- 79) Vernon-Roberts B, Fazzalari NL, Manthey BA: Pathogenesis of tears of annulus investigated by multiple-level transaxial analysis of the T12-L1 disc. **Spine.** 1997; 22:2641-6.
- 80) Johnson WE, Sivan S, Karina TW et al: Human intervertebral disc cells promote nerve growth over substrata of human intervertebral disc aggrecan. **Spine.** 2006; 31:1187-1193.
- 81) Roberts S, Caterson B, Menage J et al: Matrix metalloproteinases and aggrecanase. **Spine.** 2000; 25:3005-3013.
- 82) Roughley PJ, Alini M., Antoniou J: The role of proteoglycans in aging, degeneration and repair of the intervertebral disc. **Biochem. Society Transactions.** 2002; 30:869-874.
- 83) Saal JS: The role of inflammation in lumbar pain. **Spine.** 1996; 1:898-899.
- 84) Melrose J, Roberts S, Smith S et al: Increased nerve and blood vessel ingrowth associated with proteoglycan depletion in an ovine annular lesion model of experimental disc degeneration. **Spine.** 2002; 27:1278-85.
- 85) Johnson WE, Caterson B, Eisenstein SM et al: Human intervertebral disc aggrecan inhibits nerve growth in vitro. **Arthritis Rheum.** 2002; 46:2658-64.
- 86) Johnson WE, Caterson B, Eisenstein SM et al. Human intervertebral disc aggrecan inhibits endothelial cell adhesion and cell migration in vitro. **Spine.** 2005; 30:1139-47.

- 87) Antoniou J, Steffen T, Nelson F et al: The human lumbar intervertebral disc: Evidence for changes in the biosynthesis and denaturation of the extracellular matrix with growth, maturation, aging and degeneration. **J Clin Invest.** 1996; 98:996.
- 88) Harper E, Bloch K, Gross J: The zymogen of tadpole collagenase. **Biochemistry.** 1971; 10 (16): 3035–41.
- 89) DeGroot J, Verzijl N, Wenting-Van Wijk MJ et al: Accumulation of advanced glycation end products as a molecular mechanism for aging as a risk factor in osteoarthritis. **Arthritis Rheum.** 2004; 50:1207-15.
- 90) Roughley PJ: Biology of intervertebral disc, aging and degeneration: Involvement of the extracellular matrix. **Spine.** 2004; 29:2691-9.
- 91) Bachmeier BE, Nerlich A, Mittermaier N et al: Matrix metalloproteinase expression levels suggest distinct enzyme roles during lumbar disc herniation and degeneration. **Eur Spine J.** 2009; 18:1573-1586.
- 92) Park JB, Kong CG, Suhl KH et al: The increased expression of metalloproteinases associated with elastin degradation and fibrosis of the ligamentum flavum in patients with lumbar spinal stenosis. **Clin Orthop Surg.** 2009 Jun; 1(2):81-9.
- 93) Kawaguchi S, Yamashita T, Yokogushi K, Murakami T, Ohwada O, Sato N. Immunophenotypic analysis of the inflammatory infiltrates in herniated intervertebral discs. **Spine (Phila Pa 1976).** 2001 Jun 1;26(11):1209-14.
- 94) Nagase H., Woessner JF: Matrix metalloproteinases. **J Biol Chem.** 1999; 274:21491-21494.
- 95) Riley GP, Curry V, DeGroot J et al: Matrix metalloproteinase activities and their relationship with collagen remodelling in tendon pathology. **Matrix Biol.** 2002; 21:185-95.
- 96) Gross J, Lapiere C: Collagenolytic activity in amphibian tissues: a tissue culture assay. **Proc Natl Acad Sci USA.** 1962; 48: 1014–22.

- 97) Eisen A, Jeffrey J, Gross J: Human skin collagenase. Isolation and mechanism of attack on the collagen molecule. **Biochim Biophys Acta**. 1968; 151 (3): 637–45.
- 98) Le Maitre CL, Freemont AJ, Hoyland JA: Localization of degradative enzymes and their inhibitors in the degenerate human intervertebral disc. **J Pathol**. 2004; 204:47-54.
- 99) Woertgen C, Rothoerl RD, Brawanski A: Influence of macrophage infiltration of herniated lumbar disc tissue on outcome after lumbar disc surgery. **Spine**. 2000; 1:871-875.
- 100) Bartels EM, Fairbank JC, Winlove CP et al: Oxygen and lactate concentrations measured in vivo in the intervertebral discs of patients with scoliosis and back pain. **Spine**. 1998; 23:1-8.
- 101) Kawakami M, Matsumoto T, Kuribayashi K et al: mRNA expression of interleukins, phospholipase A2 and nitric oxide synthase in the nerve root and dorsal root ganglion induced by autologous nucleus pulposus in the rat. **J Orthop Res**. 1999; 17: 941-946.
- 102) Kang JD, Georgescu HI, McIntyre-Larkin L et al: Herniated lumbar intervertebral discs spontaneously produce matrix metalloproteinases, nitric oxide, interleukin-6, and prostaglandin E2. **Spine**. 1996; 21:271-7.
- 103) Duance VC, Crean JK, Sims TJ et al: Changes in collagen cross-linking in degenerative disc disease and scoliosis. **Spine**. 1998; 23:2545-51.
- 104) Gruber HE, Hanley EN Jr: Ultrastructure of the human intervertebral disc during aging and degeneration: Comparison of surgical and control specimens. **Spine**. 2002; 27:798-805.
- 105) Kaigle AM, Holm SH, Hansson TH: 1997 Volvo Award winner in biomechanical studies. Kinematic behavior of the porcine lumbar spine: A chronic lesion model. **Spine**. 1997; 22:2796-806.

- 106) Verzijl N, DeGroot J, Thorpe SR et al : Effect of collagen turnover on the accumulation of advanced glycation end products. **J Biol Chem.** 2000; 275:39027-31.
- 107) Bradford DS, Oegema TR Jr, Cooper KM et al: Chymopapain, chemonucleolysis, and nucleus pulposus regeneration. A biochemical and biomechanical study. **Spine.** 1984; 9:135-47.
- 108) Buckwalter JA: Aging and degeneration of the human intervertebral disc. **Spine.** 1995; 20: 1307-1314.
- 109) Weiler C, Nerlich AG, Zipperer J et al: 2002 SSE Award competition in basic science: Expression of matrix metalloproteinases is associated with intervertebral disc degradation and resorption. **Eur Spine J.** 2002; 11: 308-320.
- 110) Andersson GB: Epidemiological features of chronic low-back pain. **Lancet.** 1999; 354:581-5.
- 111) Videman T, Battié MC, Gill K et al: Magnetic resonance imaging findings and their relationships in the thoracic and lumbar spine. Insights into the etiopathogenesis of spinal degeneration. **Spine.** 1995; 20:928-35.
- 112) Doita M, Kanatani T, Harada T et al: Immunohistologic study of the ruptured intervertebral disc of the lumbar spine. **Spine.** 1996; 21:235-241.
- 113) Doita M, Kanatani T, Ozaki T et al: Influence of macrophage infiltration of herniated disc tissue on the production of matrix metalloproteinases leading to disc resorption. **Spine.** 2001; 26:1522-1527.
- 114) Ikeda T, Nakamura T, Kikuchi T et al: Pathomechanism of spontaneous regression of the herniated lumbar disc: histologic and immunohistochemical study. **J Spinal Disord.** 1996; 9:136-140.
- 115) Spiliopoulou I, Korovessis P, Konstantinou D et al: IgG and IgM concentration in the prolapsed human intervertebral disc and sciatica etiology. **Spine.** 1994; 15:1320-1323.

- 116) Moore RJ, Vernon-Roberts B, Frasser RD et al: The origin and fate of herniated lumbar intervertebral disc tissue. **Spine**. 1996; 21:2149-2155.
- 117) Goupille P, Jayson MI, Valat JP et al: Matrix metalloproteinases: the clue to intervertebral disc degeneration? **Spine**. 1998; 23:1612-1626.
- 118) Handa T, Ishihara H, Ohshima H et al: Effects of hydrostatic pressure on matrix synthesis and matrix metalloproteinases production in the human intervertebral disc. **Spine**. 1997; 22:1085-1091.
- 119) Matsui Y, Maeda M, Nakagami W et al: The involvement of matrix metalloproteinases and inflammation in lumbar disc herniation. **Spine**. 1998; 23:863-868.
- 120) Mc Carron RF, Wimpee MW, Hudkins PG et al: The inflammatory effect of nucleus pulposus: A possible element in the pathogenesis of low back pain. **Spine**. 1987; 12: 760-764.
- 121) Kauppila LI: Ingrowth of blood vessels in disc degeneration. Angiographic and histological studies of cadaveric spines. **J Bone Joint Surg Am**. 1995; 77:26-31.
- 122) Kohyama K, Saura R, Doita M et al: Intervertebral disc cell apoptosis by nitric oxide: biological understanding of intervertebral disc degeneration. **Kobe J Med Sci**. 2000; 46:283-295.
- 123) Fujita K, Nakagawa T, Hirabayashi K et al: Neutral proteinases in human intervertebral disc. Role in degeneration and probable origin. **Spine**. 1993; 18:1766-1773.
- 124) Hasegawa T, An HS, Inufusa A et al: The effect of age on inflammatory responses and nerve root injuries after lumbar disc herniation: an experimental study in a canine model. **Spine**. 2000; 25:937-940.
- 125) Habtemariam A, Gronblad M, Virri J et al: A comparative immunohistochemical study of inflammatory cells in acute-stage and chronic-stage disc herniations. **Spine**. 1998; 23:2159-2166.

- 126) Miller JA, Schmatz C, Schultz AB et al: Lumbar disc degeneration: correlation with age, sex and spine level in 600 autopsy specimens. **Spine**. 1988 Feb;13(2):173-8.
- 127) Takahashi H: A mechanism for sciatic pain caused by lumbar disc herniation. Involvement of inflammatory cytokines with sciatic pain. **Nippon Seikeigeka Gakkai Zasshi**. 1995 Jan; 69(1):17-29.
- 128) Borden P., Heller RA: Transcriptional control of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of matrix metalloproteinases. **Crit Rev Eukaryot Gene Expr**. 1997; 7: 159-178.
- 129) Crean JK, Roberts S., Jaffray DC et al: Matrix metalloproteinases in the human intervertebral disc: role in disc degeneration and scoliosis. **Spine**. 1997; 22: 2877-2884.
- 130) Nishida T: Kinetics of tissue and serum matrix metalloproteinase-3 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in intervertebral disc degeneration and disc herniation. **Kurume Med J**. 1999; 46(1):39-50.
- 131) Haro H, Shinomiya K, Murakami S et al: Chemonucleolysis with human stromelysin-1. **Spine**. 1997; 22: 1098-1104.
- 132) Liu J., Roughley PJ, Mort JS: Identification of human intervertebral disc stromelysin and its involvement in matrix degradation. **J Orthop Res**. 1991; 9:568-575.
- 133) Jia C, Wang C, Chen Y: Determination on contents of matrix metalloproteinase 3 and interleukin 1 in tissues of lumbar disc herniation and their roles in pathogenesis. **Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi**. 2006 Dec; 20(12):1180-2.
- 134) Kanemoto M, Hukuda S, Komiya Y et al: Immunohistochemical study of MMP-3 and tissue inhibitor of MMP-1 in human intervertebral discs. **Spine**. 1996; 21:1-8.
- 135) Nemoto O, Yamagishi M, Yamada H et al: MMP-3 production by human degenerated intervertebral disc. **J Spinal Disord**. 1997; 10:493-498.

- 136) Freemont AJ, Hampson V, Tilman R et al: Gene expression of matrix metalloproteinases 1,3, and 9 by chondrocytes in osteoarthritic human knee articular cartilage is zone and grade specific. **Ann Rheum Dis.** 1997; 56:542-549.
- 137) Freemont AJ, Watkins A, Le Maitre C et al. : Current understanding of cellular and molecular events in intervertebral disc degeneration: Implications for therapy. **J Pathol.** 2002; 196:374-9.
- 138) Fitzgerald J, Rich C, Burkhardt D et al: Evidence for articular cartilage regeneration in MRL/MpJ mice. **Osteoarthritis Cartilage.** 2008; 16:1319–1326.
- 139) Lutolf MP, Lauer-Fields JL, Schmoekel HG et al: Synthetic matrix metalloproteinase-sensitive hydrogels for the conduction of tissue regeneration: engineering cell-invasion characteristics. **Proc.Natl.Acad.Sci.USA.** 2003; 100:5413–5418.
- 140) Pouw MH, Hosman AJ, van Middendorp JJ et al: Biomarkers in spinal cord injury. **Spinal Cord.** 2009; 47(7):519–525.
- 141) Ruff RL, McKerracher L, Selzer ME: Repair and neurorehabilitation strategies for spinal cord injury. **Ann. NY Acad. Sci.** 2008; 1142:1–20.
- 142) Fleming JC, Norenberg MD, Ramsay DA et al: The cellular inflammatory response in human spinal cords after injury. **Brain.** 2006;129:3249–3269.
- 143) Toft-Hansen H, Babcock AA, Millward JM et al: Downregulation of membrane type-matrix metalloproteinases in the inflamed or injured central nervous system. **J Neuroinflammation.** 2007; 4:24.
- 144) Sebastine IM, Williams DJ: Current developments in tissue engineering of nucleus pulposus for the treatment of intervertebral disc degeneration. **Proc. of the 29th Annual International Conference of the IEEE EMBS.** 2007.

